

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

VERFAHREN ZUR DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN PRÜFUNG AUF SCHWERMETALLE IN BIOLOGISCHEM MATERIAL

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Helmut Hermann Gulden
aus Nürnberg

1976 № 4 05



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546220_0095

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

VERFAHREN ZUR DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN PRÜFUNG AUF SCHWERMETALLE IN BIOLOGISCHEM MATERIAL

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Helmut Hermann Gulden
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer
Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 11.10.1976

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A) EINLEITUNG	9
1. <u>Die Bedeutung des Giftes in der Menschheitsgeschichte</u>	9
2. <u>Überblick über die Giftwirkung der untersuchten Metalle</u>	9
B) PROBLEMSTELLUNG	13
C) ÜBERSICHT DER DETEKTIONSMITTEL	15
D) EXTRAKTION VON METALLEN VOR DER DÜNNSCHICHT-CHROMATOGRAPHIE (Literaturübersicht)	17
1. <u>Allgemeines</u>	17
2. <u>Carbamid-Methode</u>	17
3. <u>Diäthylammonium-Diäthylthiocarbamidat</u>	18
a) Vorschrift zur Darstellung von DÄ-DDTC	18
b) Extrahierbarkeit von Metallen mit DÄ-DDTC	19
4. <u>1,2-Diketo- bis thiosemicarbazon</u>	21
5. <u>1,2-Bis-thiobenzhydrazon</u>	22
6. <u>1-Nitrosonaphthol</u>	22
7. <u>Pyridyl-azo-2-naphthol</u> (PAN)	23
E) PAPIER- UND DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE PRÜFUNG AUF METALLE (Literaturübersicht)	24

I. Papierchromatographischer Nachweis von Arsen-Ionen	24
1. <u>Verwendung von 0,2 n NH_3-Wasser in Methanol</u>	24
2. <u>Verwendung von n-Butanol/3 n HCl</u>	25
II. Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Metall-Ionen	25
1. System n-Butanol/Isopropanol/10 %ige HCl	25
2. System n-Butanol/1 n HCl	26
3. System n-Butanol/10 n HCl/Wasser	26
4. Systeme n-Butanol/HCl/Wasser sowie n-Butanol/Ameisensäure/Wasser	27
III. Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Komplexen	28
1. System n-Hexan/Chloroform/Diäthylamin	28
2. System Aceton/Benzol	29
IV. Anwendung verschiedener Adsorbenzien in der Dünnschichtchromatographie	30
1. Nachweis von 41 Elementen mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie auf Algininsäure	30
2. Nachweis der Metalle mit Zirkoniumphosphat als Trägermaterial	32
3. Einfluß unterschiedlichen Schichtmaterials auf die Trennung der Metall-Diäthylthiocarbamate	32

V. Kombination von Dünnschichtchromatographie und Infrarotspektroskopie	34
F) EIGENE VERSUCHE ZUM DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN NACHWEIS	37
I. <u>Reagenzien und Geräte</u>	37
II. <u>Eigene Untersuchungen</u>	39
1. Allgemeines	39
2. Arbeitsschema	40
3. Untersuchte Verbindungen	41
4. Pufferlösungen	41
5. Reagenzien zur Extraktion	42
6. Laufmittelsysteme	42
7. Charakteristische Farben der Metallkomplexe	44
8. Detektionsmittel	46
<u>Eigene Versuche</u>	46
1. Versuche mit Chloroform als Laufmittelkomponente	46
a) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Hexan/Diäthylamin	46
b) Anwendung von Dichloräthylen als polarerem Fließmittel im Gemisch mit Chloroform und Diäthylamin	48
c) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Diäthylamin	49

d) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Aceton	50
e) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Benzol	50
f) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Essigester	51
 2. <u>Versuche mit Diäthylamin als Laufmit- telkomponente</u>	 53
a) Anwendung des Fließmittelgemisches Diäthylamin/Dichlormethan	53
b) Anwendung der Fließmittelgemische Diäthylamin/Dichlormethan, Diäthyl- amin/Chloroform und Diäthylamin/ Dichloräthan	54
c) Anwendung des Fließmittelgemisches Diäthylamin/Dichlormethan/Hexan	57
d) Anwendung der Laufmittelgemische Diäthylamin/Dioxan und Diäthylamin/ Methyläthylketon	58
e) Anwendung des Laufmittelgemisches Diäthylamin/Dichloräthylen	59
 3. <u>Versuche mit Petroläther als Laufmit- telkomponente</u>	 61
a) Anwendung des Laufmittelgemisches Petroläther/Methanol	61

b) Anwendung des Laufmittelgemisches Petroläther/Aceton	62
c) Anwendung der Laufmittelgemische Petroläther/Aceton (75 : 75) und (90 : 10)	65
d) Anwendung der Laufmittelgemische Petroläther/Aceton (80 : 40) und (80 : 20)	67
e) Anwendung der Laufmittelgemische Petroläther/Aceton (65 : 35) und (55 : 45)	69
f) Anwendung des Laufmittelgemisches Petroläther/Pyridin	70
g) Anwendung der Laufmittelgemische Petroläther/Pyridin (80 : 20); (70 : 30) und (60 : 40)	73
4. <u>Versuche mit Cyclohexan/Pyridin als Laufmittelgemisch</u>	75
5. <u>Gegenüberstellung der Systeme Petrol- äther/Pyridin und Cyclohexan/Pyridin</u>	79
6. <u>Identifizierung von jeweils zwei Flecken bei Co- und Cr-Chelaten auf dem ent- wickelten Chromatogramm</u>	83
7. <u>Bestimmung der Nachweisgrenzen der unter- suchten Metalle</u>	85

	Seite
8. <u>Anwendung auf biologisches Material</u>	87
G) ARBEITSVORSCHRIFT	88
1. <u>Mineralisierung</u>	88
2. <u>Extraktion</u>	88
3. <u>Dünnschichtchromatographie</u>	89
H) DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG	90
I) LITERATURVERZEICHNIS	94

A) EINLEITUNG

1. Die Bedeutung des Giftes in der Menschheitsgeschichte

"Es gibt keine Zeit in der Menschheitsgeschichte, in der nicht Gifte durch ihre dämonische Eigenart Eindruck auf die Menschen gemacht haben. Dem ganzen Altertum stellte sich der Begriff "Gift" als ein beinahe in das Leben gehöriger dar", so schreibt LEWIN (1920) in seinem Werk: "Die Gifte in der Weltgeschichte" und fährt fort, daß schon vor fast 2000 Jahren Dioskorides geäußert habe: "Die Vorbeugung gegen Gifte ist schwierig, weil die, welche heimlich Gift geben, es so anstellen, daß auch die Erfahrensten getäuscht werden. Die Bitterkeit nehmen sie den Giften dadurch, daß sie Süßes hinzufügen. Sie mischen Gifte auch Arzneimitteln zu, die, wie sie wissen, zu Gesundheitszwecken gegeben werden".

2. Überblick über die Giftwirkung der untersuchten Metalle

Die im Altertum bekannt gewordenen Vergiftungen sind größtenteils mit Arsenverbindungen durchgeführt worden. Seit den ältesten Zeiten hat man As_2O_3 (Arsenik) wegen seiner Geruch- und Geschmacklosigkeit dazu benutzt, um es dem Opfer in unauffälliger Weise beizubringen. So sind z.B. die meisten bekannt gewordenen Giftmorde der Renaissance mit Arsenik ausgeführt worden.

Recht früh wurde auch die Giftwirkung des Bleies erkannt.

Es wurden sogar Vorschriften für die Anwendung der Mittel mitgeteilt, die toxische Stoffwechselstörungen hervorrufen sollten. Diese Stoffe enthielten im wesentlichen Bleiacetat, Bleicarbonat oder Bleiglätte. Im Jahr 1930 kam es in Leipzig zu einer Massenvergiftung durch bleihaltiges Trinkwasser in Neubauwohnungen, wobei 250 Erkrankte ärztlich betreut werden mußten (FÜHNER, 1951).

Die gefährliche Bedeutung der Quecksilbersalze war bereits im 17. Jahrhundert bekannt. Bei diesen Giften kommt es nicht nur auf die Menge des aufgenommenen Quecksilbers an, sondern vor allem auf die Wertigkeit des Hg an. Eine besondere Gefahr stellen die Quecksilbersalze der Oxydationsstufe zwei dar.

Im Jahre 1861 entdeckte CROOKES in Crokanit und Lorandit das Thallium (ROEMPP, 1962). Klinische Anwendung fand es 1898 durch den Kliniker COMBENAK, der Thalliumacetat in Dosen von 0,1 g innerlich gegen Nachtschweiß von Tuberkulösen anwandte und schon bei kleinen Gaben ausgedehnten Haarausfall beobachtete, nach größeren Dosen Muskel- und Nervenschmerzen sowie Paresen in den Beinen. Erstmals erwähnt HABERDA 1928 eine Thalliumvergiftung mit Todesfolge. Seitdem stieg die Anzahl an Thalliumvergiftungen. Dies ist damit zu erklären, daß Thallium zur Schädlingsbekämpfung verwendet wird und somit leicht im Handel zu erhalten ist (FÜHNER, 1951).

Die Antimonvergiftung verläuft ähnlich wie die Arsenvergiftung. Dies konnte gelegentlich nach Verabreichung von Brechweinstein in hoher Dosis beobachtet werden (FÜHNER, 1951).

Die chemische Verwandtschaft von Wismut zu Antimon und Arsen zeigt sich auch in seinem toxikologischen Verhalten. Schwere, mitunter tödliche Vergiftungen wurden nach Einspritzung größerer Mengen "Wismutpaste" in tuberkulöse Abszeßhöhlen beobachtet. Von tödlichen Vergiftungen wurde auch bei Verwendung von Bismogenol, Bismophanol-Präparaten berichtet (FÜHNER, 1951).

Toxikologische Bedeutung besitzen auch Verbindungen des Chroms, vor allem das Chromtrioxid Cr_2O_3 , das medizinisch in verdünnter Lösung als Hautadstringens, in konzentrierter Lösung als Ätzmittel gebraucht wird. Akute Vergiftungen sind durch die Chromsäure verursacht worden. Vor allem diente ein Salz der Chromsäure, das $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, häufig zu Abtreibungsversuchen und auch zu Selbstmorden, wobei hier die Dosis von ca. 6 - 8 g tödliche Wirkung zeigt (FÜHNER, 1951).

Ein weiteres Metallgift ist das Kupfer. Hier sind es hauptsächlich die Salze CuSO_4 und Cu-oxyd-chlorid $[\text{3 Cu}(\text{OH}_2 \cdot \text{CuCl}_2)] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, die zu akuten Vergiftungen führen. Unter häufigem Erbrechen kann der Tod bei Bewußtsein unter allmählicher Gefäßlähmung und beginnender Herz-

schwäche einige Stunden nach Gifteinnahme eintreten. So wird auch von einer Cu-Vergiftung mit Todesfolge bei Verwendung von Kupferoxyd-chlorid, das u.a. als Pflanzenschutzmittel dient, berichtet. Ein 18-jähriges Mädchen hatte in selbstmörderischer Absicht dieses Mittel eingenommen und konnte trotz tagelanger Bemühungen nicht mehr gerettet werden (FÜHNER, 1951).

Medizinale Vergiftungen durch Zink sind in der Literatur häufiger beschrieben als solche durch Kupfer. Besonders die Verbindungen ZnO , ZnSO_4 und ZnCl_2 wirken bei Einnahme größerer Dosen toxisch. Als tödliche Gaben gelten Mengen von 3 - 5 g ZnCl_2 , von ZnSO_4 , das auch schwächer ätzend wirkt, liegen sie höher (FÜHNER, 1951).

Ebenfalls ätzende Wirkung zeigen die Verbindungen des Mangans. Speziell hat das als Desinfektionsmittel viel benützte, violett gefärbte KMnO_4 zu einer Reihe akuter tödlicher Vergiftungen geführt (FÜHNER, 1951).

Eine akute Silbervergiftung kommt fast nur durch das ätzende Silbernitrat AgNO_3 , Höllenstein, zustande. Bei ärztlicher Verätzung im Nasennebenrachenraum sind Höllensteinstifte abgebrochen und verschluckt worden. Jedoch haben sich hierbei tödliche Vergiftungen nur selten ereignet (FÜHNER, 1951). REINHARDT, GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, KITTEL und OPITZ berichten über eine akut verlaufende tödliche Vergiftung einer 21-jährigen Frau im

6. Schwangerschaftsmonat durch Einspritzen einer etwa 7-%igen AgNO_3 -Lösung in die Gebärmutter zu Abtreibungszwecken.

B) PROBLEMSTELLUNG

Die Aufgabe der Arbeit bestand darin, eine ausreichende Auftrennung und einen Nachweis der genannten Metalle mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie zu erreichen. Dazu war zunächst die Frage zu klären, ob die zu untersuchenden Metalle direkt oder als Metallchelate auf die Dünnschichtplatte aufgetragen werden sollten. Ferner war es notwendig, geeignete Fließmittelgemische herauszufinden, die der oben gestellten Aufgabe gerecht wurden. Das Auffinden der Erfassungsgrenzen und die Prüfung einer Anwendung der Verfahren auf biologisches Material sollte als Abschluß der Untersuchungen dienen.

In der Literatur sind schon viele Verfahren zum dünn-schichtchromatographischen Nachweis der genannten Metalle angegeben worden. Da bekanntlich schon relativ geringe Mengen eine Vergiftung herbeiführen und dann nur schwer in Körperflüssigkeiten und Organen erfaßt werden können, war klar, daß die nachzuweisenden Mengen im Mikrogrammbereich liegen würden. Die Untersuchungen sollten als Ergebnis eine empfindliche und spezifische Nach-

weismethode haben, die in der gerichtsmedizinischen und klinisch-toxikologischen Praxis verwendet werden kann.

Dazu war es wichtig, eine Nachweis- und Trennungsmethode zu finden, die schnell und für geringe Konzentrationen anwendbar ist. Zunächst galt es, die Frage zu klären, ob Metalle, die wir organischem Material zusetzten, nach der Veraschung wieder vollständig zum Nachweis zur Verfügung standen. Die Proben wurden nach FORCHE (1938) naß im Sandbad verascht unter Zugabe von konz. Schwefelsäure, konz. Salpetersäure und konz. Perchlorsäure als Oxidationsmittel. Die Säuren wurden bis zur Trockene entfernt. Der Rückstand wurde mit verd. Essigsäure aufgenommen und mit einer Pufferlösung auf einen bestimmten pH-Wert gebracht.

Aufgrund der umfassenden Untersuchungen von H. BODE (1954) über die Anwendbarkeit der Diäthylcarbamate in der Analyse ließen wir die Metallchelatkomplexe anstelle der reinen Metallsalzlösungen auf der Dünnschichtplatte laufen. Als Komplexbildner verwendeten wir sowohl das Natriumdiäthylthiocarbamidat (im folgenden als Na-DDTC abgekürzt) als auch das Diäthylammonium-Diäthylthiocarbamidat (im folgenden als DÄ-DDTC abgekürzt) und wählten als Lösungsmittel für die gebildeten Komplexe Chloroform aus.

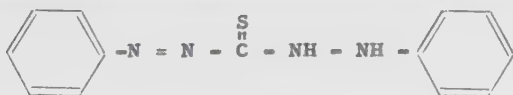
Als Methode der Wahl für die Auftrennung und den Nachweis der Metallchelate bot sich die Dünnschichtchromatographie an, die sich

1. durch Schnelligkeit
2. durch einfache apparative Handhabung
3. durch eine einfache Isolierung der chemischen Verbindungen nach der Auftrennung

auszeichnet.

C) ÜBERSICHT DER DETEKTIONSMITTEL

In der Dünnschichtchromatographie hat es sich als nützlich erwiesen, neben den Steighöhen einer Substanz auch deren Farbreaktionen mit verschiedenen Sprühreagenzien zur Sicherung des Analysenergebnisses heranzuziehen. Auch wir verwendeten zur näheren Identifizierung der einzelnen Metalle diese Detektionsmittel, die auf das entwickelte Dünnschichtchromatogramm nach dem Trocknen gesprüht wurden. Am besten bewährte sich Dithizon, eine organische Verbindung mit folgender Strukturformel:



Das Dithizon vermag mit den untersuchten Schwermetallsalzen innere Komplexsalze zu bilden, die man als Dithizonate bezeichnet. Chloroform stellt das beste Lösungsmittel für Dithizon und Dithizonate dar. Charakteristisch sind die intensiven Farben dieser Dithizonatkomplexe, während die Dithizon-Chloroform-Lösung stets grün gefärbt

ist (IWANTSCHEFF 1958).

Eine andere Möglichkeit der Kennzeichnung kann mit Ammoniumsulfid $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ erreicht werden, das mit einigen Schwermetallionen charakteristische Farben gibt. Einschränkung muß hier angefügt werden, daß $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ mit vielen Kationen schwarze Sulfide bildet, so z.B. das HgS , PbS , CuS oder NiS , so daß eine Identifizierung unbekannter Ionen sich als schwierig gestaltet.

In der Literatur wird noch auf ein weiteres Detektionsmittel, nämlich auf Kupfersulfat CuSO_4 , hingewiesen (SENF, 1966). Bei Anwendung von CuSO_4 stellte sich bei unseren Versuchen heraus, daß sämtliche Flecken auf dem Chromatogramm braun angefärbt werden, da jeweils ein braunes Cu-Metallchelat entstand. Somit konnte eine Differenzierung nur mit Hilfe der R_f -Werte vorgenommen werden.

Von den drei als Detektionsmittel angewandten Sprühreagenzien versprach eindeutig das Dithizon den größten Erfolg.

D) EXTRAKTION VON METALLEN VOR DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE (Literaturübersicht)

1. Allgemeines

Der Nachweis der forensisch wichtigen Schwermetalle mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie sollte nach einem möglichst einheitlichen Schema erfolgen. Mit Hilfe von Extraktionsmitteln werden die Metalle als Chelatkomplexe definierter Zusammensetzung, die in organischen Lösungsmitteln löslich sind, stabilisiert.

2. Carbamid-Methode

KRLEZA (1963) konnte erfolgreich mit der Carbamid-Methode eine Trennung von Aluminium, Eisen und Chrom von Nickel, Cobalt, Mangan und Zink durchführen. Ebenso versuchten BLANK, SIZONENKO und BULGAKOVA (1963) mit Natriumdiäthyl-dithiocarbamidat (Na-DDTC) Schwermetalle zu extrahieren. Es wird berichtet, daß sich die Extraktion von Eisen und Mangan bei höheren pH-Werten als 7,5 als schwierig gestaltet. Dagegen werden bei Einhaltung eines pH-Wertes unter 7,5 die meisten Metalle aus ihren Salzlösungen in organischen Lösungsmitteln extrahiert. Untersuchungen über die Anwendbarkeit von DDTC-Verbindungen für die Arsen-Extraktion führten auch VECERA und BIEBER (1956) durch. Ausgezeichnete Anregungen zu unserer Arbeit entnahmen wir der Veröffentlichung von BODE (1954), der die Carbamidmethode für die Metallextraktion systematisch

erprobte. Dabei untersuchte er das Na-DDTC in Chloroform gelöst bei verschiedenen pH-Werten. Er stellte fest, daß man aus saueren Lösungen bei der Extraktion viel DDTC mitnimmt, nicht jedoch bei alkalischem Medium. In seiner Mitteilung empfahl BODE Extraktionen bei einem pH-Wert von 6 und darüber durchzuführen. Jedoch beträgt hier die Halbwertszeit von Na-DDTC 50 Minuten, so daß rasches Arbeiten erforderlich ist. Ebenso liegen auch die Halbwertszeiten von Diäthylammonium-Diäthylthiocarbamidat in einer ähnlichen Größenordnung (BODE und NEUMANN 1960).

3. Diäthylammonium-Diäthylthiocarbamidat (DÄ-DDTC)

a) Vorschrift zur Darstellung von DÄ-DDTC

G. TÖLG (1962) gibt eine Vorschrift zur Darstellung von DÄ-DDTC: 20 g Äthylamin werden in 40 ml Äther gelöst. Unter Kühlen und Rühren läßt man tropfenweise eine Lösung von 10 g Schwefelkohlenstoff in 40 ml Äther zulaufen. Unter Erwärmen bildet sich das Reagenz, welches aus Äther umkristallisiert wird. Es ergibt farblose Nadeln, die dann in Tetrachlorkohlenstoff oder Chloroform gelöst werden.

Die Beständigkeit von DÄ-DDTC und seine Extrahierbarkeit hängt ab vom pH-Wert der Lösung, denn nach folgender Gleichung kommt es zu einer Zerfallsreaktion:



Dabei ist ein Geruch nach Schwefelkohlenstoff feststellbar. Für die analytische Praxis ergibt sich aus der Gleichung, daß man das stark saure Medium unbedingt meiden sollte. Da wir bei unseren Arbeiten immer einen pH-Wert von 5 und darüber einhielten, war der Zerfall des DÄ-DDTC entsprechend gering.

b) Extrahierbarkeit von Metallen mit DÄ-DDTC

Die ausführlichste Untersuchung über die Extrahierbarkeit der von uns untersuchten Metallionen mit DÄ-DDTC im Lösungsmittel Chloroform wurde von BODE und NEUMANN (1960) durchgeführt. Danach läßt sich zusammenfassend folgendes wiedergeben:

Kupfer : Cu^{2+}

Aus Lösungen von pH 4-11 quantitativ extrahierbar.

Silber : Ag^+

Aus Lösungen von pH 4-11 quantitativ extrahierbar.

Quecksilber: Hg^{2+}

Von pH 4-12 quantitativ extrahierbar und gleichfalls aus Lösungen, die 4n schwefelsauer, 3n schwefelsauer und gleichzeitig 2n salzsauer sowie bei pH 7,5 - 8 citrathaltig sind.

Zink : Zn^{2+}

Aus Lösungen von pH 4-11 quantitativ extrahierbar.

Thallium : Tl^+

Aus Lösungen von pH 4-11 quantitativ extrahierbar. Aus Lösungen, die 1,5 n salzsauer sind, wird Thallium nicht extrahiert.

Cadmium : Cd^{2+}

Aus Lösungen von pH 4-11 quantitativ extrahierbar.

Mangan : Mn^{2+}

Aus Lösungen von pH 5 - 9 quantitativ extrahierbar.

Blei : Pb^{2+}

Von pH 1-12 quantitativ. Ebenso läßt sich Blei aus Lösungen folgender Zusammensetzung vollständig extrahieren: 6n schwefelsauer, 1,5n salzsauer und bei pH 7,5 - 8 citrathaltig.

Arsen : As^{3+}

Von pH 1-5,8 quantitativ. 5-wertiges Arsen wird unter keinen Umständen als DÄ-DDTC-Verbindung extrahiert, sondern 3-wertiges Arsen.

Antimon : Sb^{3+}

Aus Lösungen von pH 4-9,5 quantitativ extrahierbar. Auch hier als Voraussetzung das Vorhandensein der 3-wertigen Oxydationsstufe.

Nickel : Ni^{2+}

Aus Lösungen von pH 4-11 quantitativ extrahierbar.

Cobalt : Co^{2+}

Ebenfalls von pH 4-11 quantitativ extrahierbar.

Auch für die restlichen Metalle, die von uns untersucht wurden, galten für die Extrahierbarkeit pH-Werte von ca. 4-11.

Also konnten sämtliche Metallionen bei einem pH-Wert von 5 nahezu quantitativ erfaßt werden. Die Einstellung des pH-Wertes von 5 erfolgte mit konz. Essigsäure und Natriumacetat.

4. 1,2- Diketo- bis -thiosemicarbazon

Einen interessanten Diskussionsbeitrag zum Thema Extraktionsmittel lieferten BALLSCHMITER und NIEDERSCHULTE (1972). Sie verwendeten das 1,2- Diketo- bis -thiosemicarbazon, das als vierzähliger Ligand mit vielen Metallionen gefärbte Chelatkomplexe bilden kann. Sie sind ebenso wie die DÄ-DDTC-Komplexe mit organischen Lösungsmitteln extrahierbar und erlauben spektralphotometrische Metallbestimmungen bis in den ppm-Bereich. Ebenso läßt sich eine Trennung der Chelate neben einer pH-abhängigen Extraktion durch die Dünnschichtchromatographie erreichen. Sie erfolgt über das Adsorbens Al_2O_3 und soll speziell für folgende Metallionen anwendbar sein:

Cd^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} und Zn^{2+} . Das Ergebnis ihrer Untersuchungen lautet: Während die Pb^{2+} - und Zn^{2+} -Chelate nahezu am Startfleck bleiben, ist eine Trennung der Cd^{2+} -, Cu^{2+} - und Hg^{2+} -Chelate mit Essigsäure/Äthylester/Benzol (1 : 1 : 1) als Fließmittel möglich.

5. 1,2-Bis-thiobenzhydrazon

Ebenfalls nach BALLSCHMITER und HEIZMANN (1972) können 1,2-Bis-thiobenzhydrazone mit Metallionen farbige Chelate bilden, die sich mit organischen Lösungsmitteln wie z.B. Chloroform, Methylisobutylketon und Diäthyläther extrahieren lassen. Die Autoren geben an, daß die Chelatbildung vom pH-Wert der wässrigen Phasen abhängt, wobei der günstigste Bereich in den meisten Fällen zwischen pH 4 - 8 liegt.

6. 1-Nitrosonaphthol

SENF (1962) weist auf das 1-Nitrosonaphthol als Komplexbildner hin, das schon seit langem in der analytischen Chemie zum Nachweis von Cobalt-Ionen angewandt wird. Außer Co^{2+} bilden noch Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} und Pd^{2+} mit diesem Reagenz Komplexe, die in Chloroform löslich sind.

SENF überprüfte nun, inwieweit sich 1-Nitrosonaphthol-Komplexe mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie trennen lassen würden, da im Gegensatz zu Na-DDTC oder Dithi-

zoo des 1-Nitrosonaphthol nur mit wenigen Metallionen eine Reaktion eingeht und somit ein relativ spezifisches Reagenz darstellt.

Die Bestimmung der Komplexe wurde bei 25°C vorgenommen. Zu beachten ist, daß Co und Fe in der dreiwertigen Oxidationsstufe vorliegen müssen. Vor der Zugabe von Natriumnitrit oder H_2O_2 in essigsäure Medium erreicht wird, ist noch weiter berichtet, daß bei Verwendung eines Gemisches von Kieselgel D und Al_2O_3 D im Verhältnis 1:1 als Adsorbens mit Benzol als Fließmittel gute Trenneffekte erzielt werden. Vorteilhaft an dieser Methode ist die intensive Eigenfarbe der 1-Nitrosonaphthol-Metallchelat, so daß auf ein Sprühreagens zur Detektion verzichtet werden kann.

Als Ergebnis wird angegeben, daß eine Unterscheidung der einzelnen Metallkomplexe neben dem Rf-Wert auch anhand der verschiedenen Färbungen herbeigeführt werden kann.

Die Nachweisempfindlichkeit reicht bei Ni^{2+} - und Mn^{2+} -Ionen bis $0,1 \mu g$, bei Co^{3+} - und Fe^{3+} -Ionen sogar bis $0,06 \mu g$.

7. Pyridyl-azo-2-naphthol (PAN)

Zahlreiche mehrwertige Metallionen bilden mit 1- (2-Pyridyl-azo)-2-naphthol (PAN) recht stabile Chelate, die

mit organischen Lösungsmitteln extrahierbar sind. Im pH-Bereich zwischen 4 und 10 kommt es zur Bildung von meist roten, gelegentlich auch grünen Chelatkomplexen. Eine gewisse Selektivität läßt sich durch die Wahl des pH-Wertes erzielen, insofern, als bei niederem pH-Wert nur solche Metallionen mit PAN reagieren, die mit dem Reagens besonders starke Chelate bilden; so können bei pH 5 mit CHCl_3 die PAN-Chelate folgender Ionen extrahiert werden: Fe^{3+} , Co^{3+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Tl^{3+} und Pd^{2+} . Dies stellten PÜSCHEL, KATZENGRUBER (1966) fest.

E) PAPIER- UND DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE PRÜFUNG AUF METALLE (Literaturübersicht)

I. Papierchromatographischer Nachweis von Arsen-Ionen

1. Verwendung von 0,2 n NH_3 -Wasser in Methanol

Der chromatographische Nachweis von Arsen-Ionen erfolgt nicht nur mit Hilfe der verschiedenen dünn-schichtchromatographischen Methoden, sondern gelingt auch papierchromatographisch. So verwendeten MIKETUKOVA und KACL (1967) 0,2 n NH_3 -Wasser in Methanol, im Mischungsverhältnis 2 : 8, womit sie zwischen As^{3+} und As^{5+} einen guten Trenneffekt verzeichnen konnten. Die Detektion erfolgte mit AgNO_3 in 10 % Ammoniak. Arsenit wird dabei durch einen gelben Flecken gekenn-

zeichnet, während Arsenat durch Braunfärbung sichtbar gemacht wird.

2. Verwendung von n-Butanol/3n HCl

Auch TEWARI (1962) gelang es Arsen-Ionen papierchromatographisch zu identifizieren. Die zu untersuchende Probelösung wurde mit einer gesättigten Mischung von n-Butanol/3n HCl aufsteigend sechs Stunden chromatographiert. Zur Sichtbarmachung diente 0,5 %ige Dithizonlösung in CHCl_3 , die Arsen gelb anfärbt.

II. Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Metallionen

1. System n-Butanol/Isopropanol/10 %ige HCl

Laufmittelsystem: n-Butanol/Isopropanol/10 %ige HCl

Adsorptionsmittel: Kieselgel G

Detektionsmittel: Ammoniumsulfid

SEILER (1962) gibt an, daß er Gemische von Hg, Bi, Cd, Pb und Cu mit n-Butanol/1,5 n HCl/Acetylaceton auf Kieselgel trennen konnte. Er untersuchte den Einfluß von verschiedenen Lösungsmitteln (Dioxan, n-Butanol, Isopropanol, n-Propanol, Aceton, Äthanol und Methanol) in Verbindung mit einer 10 %igen HCl auf das chromatographische Verhalten von Cu, Co und Ni auf Kieselgelplatten. Dabei wurden beste Resultate mit Isopropanol mit 10-%iger HCl erreicht.

2. System n-Butanol/1 n HCl

Laufmittelsystem: n-Butanol/1 n HCl

Sorptionsmittel: Kieselgel MNS-HR

Detektionsmittel: 0,2 %ige Lösung von Quercetin in Äthanol

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen stellte SEILER (1970) mit verschiedenen Oxydationsstufen von Vanadium (V^{3+} , VO^{2+} und VO_2^+) an. Als Laufmittel diente n-Butanol gesättigt mit 1 n HCl, wobei alle drei Oxydationsstufen verschiedene Steighöhen aufwiesen. Die Reihenfolge der relativen Steighöhen lautet: $V^{3+} < VO^{2+} < VO_2^+$.

3. System n-Butanol/10 n HCl/Wasser

Laufmittelsystem: n-Butanol/10 n HCl/Wasser (30:3:7)

Sorptionsmittel: Cellulose

Detektionsmittel: Dithizon

BRINKMANN und KINGMA (1969) verwendeten u.a. ebenfalls Butanol als Fließmittel. Es gelang ihnen mit Hilfe einfacher Lösungsmittelsysteme alle Gruppen des klassischen Analysenganges zu trennen, wobei sie mit Cellulose-Fertigplatten der Fa. Merck noch bessere Resultate als mit Avicel mikrokrist. Cellulose erzielten, weil die Flecken bei ersterem kompakter sind.

Zusammenfassend gaben die Autoren folgende Ergebnisse an:

Bei Ag, Pb, Tl wurde bei Gebrauch einer Lösung von 8 - 10 % Ammoniak in Wasser eine gute Trennung bei einer Temperatur von $14 - 17^{\circ}$ erhalten. Die Flecken wurden bei Ag und Tl bei höheren Temperaturen länger.

Die besten Trenneffekte wurden nach Angaben der Autoren mit n-Butanol/10 n HCl/Wasser (30:3:7) erreicht. Während bei Hg, Cd und Bi von einer deutlichen Trennung berichtet wird, zeigt sich bei Pb eine Schwanzbildung und bei Cu der geringste Rf-Wert.

4. Systeme n-Butanol/HCl/Wasser sowie n-Butanol/Ameisensäure/Wasser

Laufmittelsysteme: n-Butanol/HCl/Wasser sowie n-Butanol/Ameisensäure

Sorptionsmittel: Kieselgel

Detektionsmittel: Ferrocyanidlösung

Einen weiteren Beitrag zur dünnschichtchromatographischen Trennung mit n-Butanol als Laufmittelkomponente lieferten RAJEEV, GUPTA und SRIVASTAVA (1972). Wässrige Lösungen (0,2 - 0,3 %) der Salze von V, Mo, Ti, Co, Ni, Cu, Fe wurden hergestellt, wobei die Salze von Co, Ni, Cu, Fe meist spontan gefärbte Flecken mit einem Ferrocyanid-Sprühreagens (1 % in 2 % HCl) gaben. Um eine Trennung herbeizuführen, wurden folgende Laufmittel genommen: n-Butanol/HCl/Wasser und n-Butanol/Ameisensäure/Wasser mit variierenden Zusammensetzungen der Säuren. Die

Flecken wurden sichtbar gemacht mit einem frisch bereiteten Ferrocyanid-Sprühreagens. Im Verhältnis 80:50:60 der Mischung n-Butanol/HCl/H₂O konnten bei Co und Ni die besten Trenneffekte erhalten werden.

III. Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Metallkomplexen

1. System: n-Hexan/Chloroform/Diäthylamin

Komplexbildner: Diäthylthiocarbamidat

Laufmittelsystem: n-Hexan/Chloroform/Diäthylamin

Sorptionsmittel: Kieselgel D

Detektionsmittel: CuSO₄

Sehr ausführlich hat sich SENF (1966) mit der Anwendung von DÄ-DDTC als Komplexbildner bei der Untersuchung von forensisch wichtigen Metallen in der Dünnschichtchromatographie (DC) beschäftigt. Er beschreibt eine Methode, mit der man Chelatkomplexe dünnschichtchromatographisch trennen kann. Dabei wurde die Metallsalzlösung mit einem Citronensäure-Phosphat-Puffer nach Mc Ilvain (pH 8) versetzt. Bei der Suche nach einem geeigneten Fließmittel ergaben sich mit dem System n-Hexan/Chloroform/Diäthylamin im Verhältnis 20:2:1 die besten Trenneffekte. Als Adsorbens diente Kieselgel D der Firma VEB Chemiewerk Greiz-Dölau.

0,1 µg jeder Verbindung ließen sich noch gut nachweisen. Als Detektionsmittel diente CuSO_4 . Beim Besprühen erschienen die Metallchelatkomplexe sämtlich als braune Flecken, so daß eine Differenzierung nur durch die Rf-Werte erfolgte. Dabei wurden folgende Rf-Werte, die in Tabelle 1 wiedergegeben sind, ermittelt.

Tabelle 1: Rf-Werte von Pb-, Bi-, Cd-, Cu-, Hg-Komplexen mit DDTC im Gemisch n-Hexan/Chloroform/Diäthylamin (20:2:1)

Komplexbildner: Diäthylthiocarbamidat

Detektionsmittel: Kupfersulfat

Metallchelatkomplexe	Rf-Werte
Pb (DDTC) ₂	0,0
Bi (DDTC) ₃	0,27
Cd (DDTC) ₂	0,34
Cu (DDTC) ₂	0,44
Hg (DDTC) ₂	0,56

2. System: Aceton/Benzol

Komplexbildner: DÄ-DDTC

Laufmittelsystem: Aceton/Benzol

Sorptionsmittel: Gereinigtes Kieselgel G

Detektionsmittel: Dithizon, Ammoniumsulfid

Einen interessanten Beitrag zur Ermittlung geeigneter Fließmittel liefert ein Bericht von KÜNZI, BÄUMLER und IM OBERSTEG (1962). Sie untersuchten die Metallionen von As, Hg, Tl, Pb, Cu, Sb, Cd und Bi mit Komplexbildner wie Komplexon II, Antipyrin, Sulfosalicylsäure und Weinsäure, wobei sich letztere am besten bewährte. Sie stellten fest, daß mit reinen Fließmitteln (Butanol, Dioxan, Methanol, Aceton oder Benzol) eine klare Trennung der oben angegebenen forensisch wichtigen Metallionen nicht möglich war. Wie erwartet, ergaben Lösungsmittelgemische bessere Resultate. Sie gaben hier an, daß ein Salpetersaures Gemisch von Aceton/Benzol (3 : 1) unter Verwendung von Weinsäure als Komplexbildner den besten Erfolg brachte.

Der Nachweis der einzelnen Metallkomplexe erfolgt durch Besprühen der luftgetrockneten Chromatogramme mit verschiedenen farbgebenden Sprühlösungen, z.B. mit Dithizon oder mit Ammoniumsulfid. Nachweisbar waren mit Sicherheit noch Mengen von 2 µg.

IV. Anwendung verschiedener Adsorbentien in der Dünnschichtchromatographie

1. Nachweis von 41 Elementen mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie auf Algininsäurebasis

Laufmittelsysteme: HCl , HClO_4 , CH_3COOH , H_2O

Sorptionsmittel: Algininsäure

Detektionsmittel: 0,2 n Ammoniumsulfidlösung

8-Hydroxyquinolin

Dithizon

Rf-Werte von insgesamt 41 Elementen bestimmten COZZI, DESIDERI, LEPRI und CIANTELLI (1968), manche in zwei Oxydationsstufen mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie auf Algininsäurebasis. Dabei wurden die Auswirkungen auf die Laufstrecke, hervorgerufen durch das Laufmittel, Temperatur, H^+ -Ionenkonzentration der Elutionsmittel und die Dicke der Schichten ausführlich untersucht.

Als wichtigstes Resultat wurde die Abhängigkeit der Rf-Werte der untersuchten Metalle von der Temperatur herausgestellt. Es ist ein Anstieg der Rf-Werte bis maximal 40° festzustellen, über 40° wurde das beobachtete Verhalten (d.h. anormale Werte) mit der Depolymerisation der Algininsäure in Verbindung gebracht.

Die Konzentration und Art der verwendeten Mineralsäuren hatten keinen direkten Einfluß auf die Laufmittelfront, ebenso die unterschiedliche Schichtdicke.

2. Nachweis der Metalle mit Zirkoniumphosphat als Trägermaterial

Laufmittelsysteme: 0,5 n und 0,1 n HCl

Sorptionsmittel: Zirkonhypophosphat

Detektionsmittel: Dithizon

KÖNIG und DEMEL (1968) versuchten die Trennprobleme mit Zirkonhypophosphat als Adsorbens zu lösen. Zirkonhypophosphat (ZHP) ist ein Kationenaustauscher, der in sauren Lösungen eine ausgesprochene Affinität für hochgeladene Kationen zeigt. Mit Hilfe einer 0,5 n oder 0,1 n HCl als Fließmittel und Dithizon als Detektionsmittel konnten die wichtigsten Schwermetallgifte identifiziert werden. So werden hochgeladene und kleine hydratisierte Ionen gut sorbiert. Mit steigender Größe nimmt die Sorption der Ionen ab und dementsprechend steigen die R_f -Werte. Als nachteilig muß bei dieser Methode jedoch die lange Laufzeit von ca. 3 Stunden angesehen werden, was für eine schnelle Identifikation unbekannter Ionen nicht gerade wünschenswert ist.

3. Einfluß unterschiedlichen Schichtmaterials auf die Trennung der Metall-Diäthylthiocarbamate

Komplexbildner: DÄ-DDTC

Laufmittelsystem: Cyclohexan/1,2-Dichloräthan (3 : 1)

Sorptionsmittel: Kieselgel und Kieselgel silanisiert

Detektionsmittel: Fluoreszenzlösung mit UV-Licht

Ausführliche dünnschichtchromatographische Untersuchungen führte in den letzten Jahren BALLSCHMITER (1970) durch. Vor allem befaßte er sich mit dem Einfluß unterschiedlichen Schichtmaterials auf die Trennung der Metall-DÄ-DDTC-Komplexe. Am Beispiel des Paares Cu - Zn wies er nach, daß auf Kieselgel das Cu^{2+} -DÄ-DDTC und das Zn^{2+} -DÄ-DDTC gerade noch getrennt werden können. Zudem kann eine Umkehrung der Rf-Werte beobachtet werden.

Unterschiedliche Ergebnisse erbrachten ebenfalls die Vergleichende Kieselgel und Kieselgel silanisiert bei den drei Metallionen As, Bi, Sb. Während auf Kieselgel eine Trennung der drei Metall-DÄ-DDTC-Komplexe nicht möglich ist, konnte BALLSCHMITER eine Unterscheidung auf Kieselgel silanisiert feststellen, wobei das As-DÄ-DDTC den größten Rf-Wert aufwies, während Bi-DÄ-DDTC am Start liegen blieb. Wie auf Al_2O_3 lag das Sb-DÄ-DDTC in der Mitte und zeigte eine Schwanzbildung.

In derselben Arbeit wurde noch eine andere Untersuchung wiedergegeben, die die qualitative Prüfung des Einflusses des Wassergehaltes auf der Al_2O_3 -Schicht betraf. Es zeigte sich, daß sich die unterschiedliche Aktivität der Al_2O_3 -Schicht auf die Rf-Werte nur weniger Metall-DÄ-DDTC merklich auswirkte. Man beobachtete einen begrenzten Einfluß für die DÄ-DDTC-Komplexe von Tl^+ , Sb^{3+}

und Bi^{3+} , bei denen die Rf-Werte auf Al_2O_3 unterschiedlicher Aktivität variierten. Außerdem wurde auf aktiviertem Al_2O_3 die Schwanzbildung erheblich verstärkt. Dagegen konnte bei Co^{3+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} und Te^{4+} -DÄ-DDTC festgestellt werden, daß die unterschiedliche Aktivität keinen Einfluß auf die Rf-Werte hatte. Sie unterschieden sich jeweils nur um ca. 5 %.

V. Kombination von Dünnschichtchromatographie und Infrarotspektroskopie

Komplexbildner: Pyrrolidindithiocarbonsäure-(1)-Natriumsalz

Laufmittelsystem: Hexan/Chloroform/Diäthylamin (65:30:5)

Sorptionsmittel: Kieselgel H

Detektionsmittel: Kupfersulfat

Einen sehr interessanten Aspekt bringen MALISSA, KELLNER und PROKOPOWSKI (1972) mit ihrer Analyse von Metalltetramethyldithiocarbamidat-Gemischen durch Kombination von Dünnschichtchromatographie und Infrarotspektroskopie.

Bei infrarotspektroskopischen Untersuchungen von Dialkyldithiocarbamidaten konnte KELLNER (1972) feststellen, daß bei den Metallsalzen der Dithiocarbaminsäuren eine Verschiebung der Lage bestimmter Absorptionsbanden im Infrarotspektrum der Moleküle in Abhängigkeit vom Zen-

tralatom auftritt. So konnten unter gewissen Bedingungen einige Metaldithiocarbamidate aufgetrennt werden, so z.B. bei Verwendung kleiner Konzentrationen. Jene Metallkomplexe, deren Banden im Infrarotspektrum nahe beisammen liegen, verlangen einen zusätzlichen Trennschnitt, der mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie erreicht wurde. Als stationäre Phase wurde Kieselgel H (Schichtdicke 0,2 mm) genommen. Durch orientierende Vorversuche und Angaben von SENF (1962) konnte als geeignetes Laufmittel eine Mischung aus Hexan, Chloroform und Diäthylamin (65 : 30 : 5) ermittelt werden. Mit einer Mikropipette wurden ca. 50 µg Substanz auf die Dünnschichtplatte aufgetragen. Nach der Elution und anschließendem Trocknen des Chromatogramms wurde die Platte mit CuSO_4 besprüht, so daß sich das braune Cu-Tetramethyldithiocarbamidat bildete. Zur Lokalisation des Substanzfleckes bei farblosen Substanzen wurde eine zweite Platte mit der gleichen Substanz gleichzeitig entwickelt. Auf gleicher Höhe mußte sich dann auf der ersten Platte die farblose Substanz befinden.

Die durch die DC aufgetrennten Substanzen wurden durch mehrmaliges Extrahieren mit CHCl_3 und Zentrifugieren vom Kieselgel getrennt. Der Extrakt auf ca. 30 mg KBr übergeführt und das Lösungsmittel verflüchtigt. Anschließend erfolgte die Aufnahme der IR-Spektren.

Einige Tetramethyldithiocarbamidate lassen sich durch Kombination von DC und IR-Spektroskopie identifizieren. So haben z.B. Hg-, Cu-, Mn-Chelate Rf-Werte um 0,74, jedoch ermöglicht die IR-Spektroskopie eine gute Auftrennung. Umgekehrt liegen die C≡N-Banden von Bi, Cd und Mn eng beieinander, doch ermöglichen ihre unterschiedlichen Rf-Werte eine gute Auftrennbarkeit.

Auch auf die Trennung von Fe-, Co-, Ni-Chelaten wird hingewiesen. Hier lassen sich die C≡N-Banden des Fe- und Ni-Komplexes im IR-Spektrum unterscheiden. Der Co-Komplex, dessen C≡N-Bande jene des Fe-Komplexes überlagert, wird mit Hilfe der DC abgetrennt und dann spektroskopisch bestimmt.

Die Autoren berichten weiter, daß durch quantitative Messungen der Grad der Eluierbarkeit der untersuchten Substanzen vom Kieselgel festgestellt werden konnte. Die vom Kieselgel zurückgehaltenen Anteile an Substanz unterschieden sich sehr, was auf die unterschiedliche Löslichkeit in CHCl_3 und auf die verschieden starke Adsorption auf der stationären Phase zurückzuführen ist.

F) EIGENE VERSÜCHE ZUM DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN NACHWEIS

I. Reagenzien und Geräte

Es wurden nur mindestens analysenreine Reagenzien verwendet.

Lösungen:

2 n HCl

Aqua destillata

Es wurden 0,05 m Metallsalzlösungen von folgenden Verbindungen, nach Atomgewichten der Metalle geordnet, hergestellt:

$K_2Cr_2O_7$	:	0,1471 g in 10 ml Wasser
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	:	0,0989 g in 10 ml Wasser
$NiCl_2$	:	0,1188 g in 10 ml Wasser
$Co(NO_3)_2$	:	0,1455 g in 10 ml Wasser
$CuSO_4$	:	0,1248 g in 10 ml Wasser
$ZnCl_2$	:	0,0681 g in 10 ml Wasser
As_2O_3	:	0,0989 g in 10 ml Wasser
Na_2MoO_4	:	0,1209 g in 10 ml Wasser
$PdCl_2$	:	0,0886 g in 10 ml Wasser
$AgNO_3$	:	0,0849 g in 10 ml Wasser
$CdSO_4$	:	0,1248 g in 10 ml Wasser
$SnCl_2$	:	0,1128 g in 10 ml Wasser
$SbCl_3$	:	0,1145 g in 10 ml Wasser
$HgCl_2$	:	0,1358 g in 10 ml Wasser
$TlCH_3COO$	:	0,1316 g in 10 ml Wasser
$Pb(CH_3COO)_2$	:	0,1626 g in 10 ml Wasser
$Bi(NO_3)_3$	:	0,1975 g in 10 ml Wasser

Reagenzien zur Veraschung

konz. H_2SO_4 (95 - 97 %)

konz. HNO_3 mind. 65 %

Perchlorsäure ca. 70 %

Perhydrol ca. 30 %

Herstellerfirma: Fa. Merck, Darmstadt

Pufferlösungen

Citronensäure-Phosphat-Puffer nach Mc Ilvain, pH = 8,0

Stammlösung I: 21,008 g Citronensäure ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
auf 1000 ml Wasser

Stammlösung II: 35,62 g Dinatriumphosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) auf 1000 ml Wasser

Um einen pH-Wert von 8 zu erhalten, mischt man 2,75 ml
Stammlösung I mit 97,25 ml Stammlösung II.

Essigsäure-Natriumacetat-Puffer, pH = 5,1

0,177 ml 100 %ige Essigsäure und 0,9574 g Natriumacetat
auf insgesamt 100 ml mit Wasser auffüllen. Die Lösung
hat einen pH-Wert von 5,1.

Reagenzien zur Extraktion

DÄ-DDTC 1 %ig in CHCl_3 oder Na-DDTC 1 %ig in CHCl_3

Reagenzien zur Detektion

Dithizon 0,01 %ig in CHCl_3

CuSO_4 0,01 %ige Lösung

Sorptionsmittel

DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄, 20 cm x 20 cm, Schicht-
dicke 0,25 cm der Firma Merck, Darmstadt

Spektralanalyse

Jarrel-Ash-Spektrograph mit 1,5 m Brennweite

Spektralkohle zur Analyse, Qualität RW A

Trägerelektrode Typ RW 0078

Gegenelektrode Typ RW 0085

Herstellerfirma: Fa. Ringsdorff-Werke GmbH Mehlem

Ammoniumchlorid (fest) als Bläsestoff

Elektrodenabstand: 2 - 3 mm

Argon

Film: 35 mm Kodak Spektral-Analysis Nr. 1

Entwickler: Spezialentwickler der Fa. Tetenal-Photowerk
Hamburg, Berlin

II. Eigene Untersuchungen

1. Allgemeines

Wir hatten uns die Aufgabe gestellt, eine gute Auftrennung der wichtigsten Schwermetalle als Komplexe mit DÄ-DDTC oder Na-DDTC mit einem geeigneten Fließmittelsystem zu erzielen und mit Hilfe eines Detektionsmittels eine weitere Identifizierung zu erreichen.

2. Arbeitsschema

Dabei gingen wir bei allen Untersuchungen nach folgendem Schema vor:

Von den 0,05 molaren Metallsalzlösungen wurden 0,3 ml abpipettiert und mit 2 ml Pufferlösung und 1 ml einer immer frisch bereiteten 1 %igen Chloroform-Lösung von Na-DDTC oder DÄ-DDTC versetzt. Der entstandene Komplex wurde zweimal mit je 5 ml Chloroform im Schütteltrichter (50 ml) ausgeschüttelt. Unmittelbar danach wurde auf eine vorbereitete, mit fluoreszenzhaltigem Kieselgel beschichtete Platte jeweils 0,01 ml der Chloroformphase unter Verwendung eines Föns aufgetragen. Anschließend erfolgte das Einbringen der DC-Platte in die mit dem Fließmittelgemisch gesättigte Kuvette.

Zunächst hatten wir auf die Feststellung der Nachweisgrenzen der zu chromatographierenden Metalle verzichtet. Die Prüfung, ob auch pathologische Werte aus biologischem Material dünnschichtchromatographisch nachzuweisen sind, sollte erst zum Abschluß unserer Versuchsreihe erfolgen. Viel wichtiger erschien uns zunächst, überhaupt eine geeignete Methode, d.h. ein oder mehrere Fließmittelsysteme zu ermitteln, die eine zufriedenstellende Auftrennung wichtiger Metallchelate zulassen. Aus diesem Grunde gingen wir von Mengen von ca. 50 - 100 μ g aus, die uns genügend Spielraum bei unseren Versuchen ließen.

Das entwickelte Dünnschichtchromatogramm wurde zunächst unter einer UV-Lampe betrachtet, wobei die Chelate durch Fluoreszenzlöschung auf der mit UV-Licht bestrahlten Dünnschichtplatte lokalisiert wurden, was schon eine Vororientierung erbrachte. Im Anschluß daran erfolgte das Besprühen mit einer 0,01 %igen Dithizonlösung sowie mit einer konz. Ammoniak-Lösung. Anhand der Steighöhen und der speziellen Anfärbbarkeit der Metallchelate war eine rasche Orientierung in einem Arbeitsgang möglich.

3. Untersuchte Verbindungen

Bei der Ermittlung von geeigneten Fließmittelgemischen wurden von uns insgesamt 17 anorganische Salze eingesetzt, die sich vor allem durch Wasserlöslichkeit auszeichneten mit Ausnahme der Sb^{3+} - und Bi^{3+} -Salze, die mit Wasser Hydrolyse eingehen und dann schwer lösliche Oxidsalze bilden. Die einzelnen Metallsalze sind auf Seite 37 aufgeführt. Um Cr^{3+} -Ionen zu erhalten, reduzierten wir Kaliumdichromat mit Hilfe von Wasserstoffperoxid in saurer Lösung.

4. Pufferlösungen

Um bei allen Metallsalzlösungen gleiche pH-Bedingungen zu gewährleisten, setzten wir immer vor der Extraktion eine Pufferlösung zu. Dabei überprüften wir sowohl den Citronensäure-Phosphat-Puffer mit einem pH von 8 als auch den Essigsäure-Acetat-Puffer mit einem pH von 5,1

und stellten fest, daß mit beiden Pufferlösungen identische Ergebnisse, mit Ausnahme von As und Cr bei pH von 8, erzielt werden konnten.

5. Reagenzien zur Extraktion

Bei den Reagenzien zur Extraktion wählten wir Na-DDTC und DÄ-DDTC aus. Auch hier konnten wir beim Vergleich der Ergebnisse übereinstimmende Werte erkennen, so daß beide Reagenzien für unsere Versuchsreihen Anwendung fanden.

6. Laufmittelsysteme

Da die Wanderungsgeschwindigkeit einer chemischen Verbindung bei einem gleichbleibenden Adsorbens stark von dem verwendeten Laufmittel abhängt, kann man eine Reihenfolge steigender Elutionswirkung, die sog. eluotrope Reihe aufstellen. Dies beruht darauf, daß eine adsorbierte Substanz von verschiedenen Fließmitteln unterschiedlich von dem festen Adsorbens heruntergelöst (eluiert) wird. Eine Eluotrope Reihe von Laufmitteln hat G. Wohlleben zusammengestellt. Sie ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2: Eluotrope Reihe von Laufmitteln

Zunahme der eluotropen Wirkung	↓	n-Pentan Petroläther n-Hexan n-Heptan Cyclohexan Tetrachlor- kohlenstoff Trichlor- äthylen Benzol Dichlormethan Chloroform Diäthyläther Äthylacetat Pyridin Aceton n-Propanol Methanol Wasser	↓	Zunahme der Polarität
--------------------------------------	---	---	---	--------------------------

Die Zunahme der eluierenden Wirkung geht einher mit ansteigender Polarität der Lösungsmittel. So ist Petroläther unpolar und lipophil, Methanol dagegen polar und hydrophil.

Da Gemische von zwei oder drei Laufmitteln verschiedener Polarität zu besseren Trennungsergebnissen führten als chemisch einheitliche Fließmittel, wurden bei unseren Versuchsreihen insgesamt 35 Fließmittelgemische geprüft.

Beim längeren Gebrauch von Fließmitteln tritt nach einiger Zeit ein Nachlassen der Trennfähigkeit auf, ausgelöst durch eine Veränderung des Lösungsmittels (z.B. Esterbildung, Verdunstung). Es ist deshalb unbedingt empfehlenswert, das Laufmittelgemisch häufig zu erneuern, um reproduzierbare Analysenergebnisse zu erhalten.

7. Charakteristische Farben der Metallkomplexe

Bei der Herstellung der Metallchelateextrakte fiel uns auf, daß sich zum Teil recht charakteristische Farben mit den Komplexbildnern DÄ-DDTC und Na-DDTC ergaben. Ein Unterschied zwischen den Farben der Metallchelatekomplexe von DÄ-DDTC und Na-DDTC konnte jedoch nicht festgestellt werden. Wiederum nach Atomgewicht der Metalle geordnet, sind die Farben der Metallchelate nach Extraktion mit DÄ-DDTC oder Na-DDTC in Chloroform in Tabelle 3 wiedergegeben.

Tabelle 3: Farben der Metallchelate in Chloroform
nach Extraktion mit DÄ-DDTC oder Na-DDTC

Cr(DDTC) ₃	hellgrün
Mn(DDTC) ₂	braun
Ni(DDTC) ₂	hellgrün
Co(DDTC) ₂	grün
Cu(DDTC) ₂	dunkelbraun
Zn(DDTC) ₂	farblos
As(DDTC) ₃	farblos
Mo(DDTC) ₃	farblos
Pd(DDTC) ₂	bläßgelb
Ag(DDTC)	schwachgrün
Cd(DDTC) ₂	hellgelb
Sn(DDTC) ₂	hellgrün
Sb(DDTC) ₃	hellgelb
Hg(DDTC) ₂	farblos
Tl(DDTC)	bläßgelb
Pb(DDTC) ₂	bläßgelb
Bi(DDTC) ₃	gelbgrün

Diese unterschiedlichen Färbungen der Metallchelateextrakte konnten somit als vororientierende Erkennungsmöglichkeit angesehen werden.

8. Detektionsmittel

Wir überprüften das von SENF (1966) angegebene Detektionsmittel Kupfersulfat (CuSO_4 in wässriger Lösung) und konnten dabei feststellen, daß sämtliche Flecken auf dem Chromatogramm braun angefärbt wurden, da jeweils ein braunes Cu-Metallchelat gebildet wurde. Aufgrund der unzureichenden Aussage nahmen wir von diesem Sprühreagenz Abstand und wandten uns dem Dithizon zu, das sich im Vergleich zu Kupfersulfat viel besser bewährte. Wie auf Seite 71 angeführt, geben die Metallchelatkomplexe mit Dithizon charakteristische Farben, die bei der Identifizierung eine wertvolle Hilfestellung darstellen.

Eigene Versuche

1. Versuche mit Chloroform als Laufmittelkomponente

a) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Hexan/Diäthylamin

Die Ermittlung eines geeigneten Laufmittelsystems begannen wir mit einem Gemisch Chloroform/Hexan/Diäthylamin (2 : 20 : 1), das in der Literatur als erfolgversprechend beschrieben wurde (SENF, 1966).

Nach einer Laufzeit von 20 min und einer Laufstrecke von ca. 11 cm wurden uns folgende Rf-Werte erhalten, die in Tabelle 4 wiedergegeben sind.

Tabelle 4: Steighöhen einiger Metallchelatkomplexe im Gemisch Chloroform/Hexan/Diäthylamin (2 : 20 : 1) nach steigendem Rf-Wert geordnet.

Komplexbildner: Na-DDTC pH 8

Detektionsmittel: Kupfersulfat

Metallkomplexe	Rf-Werte
Bi(DDTC) ₃	0,15
As(DDTC) ₃	0,20
Mn(DDTC) ₂	0,22
Zn(DDTC) ₂	0,25
Sb(DDTC) ₃	0,27
Cu(DDTC) ₂	0,31
Hg(DDTC) ₂	0,34

Die Angaben von SENF (1966) der eine klare Trennung von Hg, Cu und Bi angibt, konnte nicht bestätigt werden, dagegen wurde der Hinweis bekräftigt, daß das Bi-Metallchelat am wenigsten weit wandert.

Die Werte der Literatur waren jedoch insofern nicht eindeutig von uns nachprüfbar, als uns das als Adsorbens verwendete Kieselgel D nicht zur Verfügung stand, so daß hier die Fehlerquelle zu suchen ist.

b) Anwendung von Dichloräthylen als polarerem Fließmittel im Gemisch mit Chloroform und Diäthylamin

Wir beschickten eine Kuvette mit dem Fließmittelgemisch Chloroform/Dichloräthylen/Diäthylamin (40 : 86 : 6). Für die Trennversuche wählten wir fünf Metallchelate aus, diese wiesen nach einer Laufstrecke von 10 cm folgende Rf-Werte auf, die in Tabelle 5 wiedergegeben sind.

Tabelle 5: Auftrennung von fünf Metallchelatkomplexen in Chloroform/Dichloräthylen/Diäthylamin (40 : 86 : 6)

Komplexbildner: Na-DDTC; pH 8

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte
Zn(DDTC) ₂	0,0
Sn(DDTC) ₂	0,0
Mo(DDTC) ₂	0,0
Ni(DDTC) ₂	0,41
Bi(DDTC) ₃	0,47

Während drei der geprüften Metallchelatkomplexe am Start blieben und somit keine Aussage zuließen, erbrachten die anderen drei nahezu identische Rf-Werte, so daß dieses System nicht den Anforderungen entsprach.

c) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform und
Diäthylamin

Die Änderung des Fließmittelgemisches ergab bei den eingesetzten Metallchelaten lediglich eine deutliche Trennung von Cd von den übrigen Metallchelaten, die sich in ihren Rf-Werten fast nicht unterschieden. In Tabelle 6 sind die Rf-Werte einiger Metallchelate wiedergegeben.

Tabelle 6: Auftrennung einiger Metallchelatkomplexe
mit Na-DDTC in Chloroform/Diäthylamin
(22 : 1)

Komplexbildner: Na-DDTC; pH 8

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte
Cd(DDTC) ₂	0,57
Hg(DDTC) ₂	0,79
Sb(DDTC) ₃	0,81
Pb(DDTC) ₂	0,82
Zn(DDTC) ₂	0,83
Cu(DDTC) ₂	0,84
Mn(DDTC) ₂	0,85
As(DDTC) ₃	0,87

Allem Anschein nach spielt der geringe Unterschied in der Polarität der beiden Fließmittelkomponenten die ausschlaggebende Rolle für die unzureichende Auftrennung.

d) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Aceton

Wir setzten unsere Versuchsreihe mit Chloroform als Laufmittelkomponente fort, indem wir Fließmittel einsetzten, die in der eluotropen Reihe dem Chloroform benachbart sind, d.h. einen polaren Charakter zeigen.

Zunächst wurde ein Gemisch aus Chloroform und Aceton im Verhältnis 85 : 15 untersucht. Bei einer Laufzeit von 30 min und einer Laufstrecke von 10 cm wurde die Dünnschichtplatte der Küvette entnommen und getrocknet. Die Auswertung der Rf-Werte brachte keinen Fortschritt, da die Steighöhen der eingesetzten Metalle nahezu identisch waren.

e) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Benzol

Anstelle von Aceton wählten wir nunmehr Benzol als Laufmittelkomponente aus, das in der eluotropen Reihe noch enger dem Chloroform benachbart ist. Nach einer Laufzeit von 30 min und einer Laufstrecke von 11 cm wurden von uns folgende Rf-Werte einiger Metallchelatkomplexe erhalten, die in Tabelle 7 wiedergegeben sind.

Tabelle 7: Auftrennung einiger Metallchelatkomplexe
mit Na-DDTC in Chloroform/Benzol (16 :80)

Komplexbildner: Na-DDTC; pH 8

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte	
Mn(DDTC) ₂	0,0	
As(DDTC) ₃	0,40	
Bi(DDTC) ₃	0,45	mit Schwanz-
Ag(DDTC)	0,45	bildung
Mo(DDTC) ₂	0,45	"
Sb(DDTC) ₃	0,50	"

Auffallend an diesem Versuch ist die recht gute Trennbarkeit von As und Sb, wie wir sie bisher noch nicht erzielen konnten. Die anderen Rf-Werte zeigten jedoch, daß dieses Fließmittelgemisch für weitere Untersuchungen nicht brauchbar war.

f) Anwendung des Laufmittelgemisches Chloroform/Essigester

Der abschließende Versuch mit CHCl_3 als Laufmittelkomponente bestätigte die Ansicht, daß es wenig geeignet ist, für eine Auftrennung von Metallchelaten zu sorgen.

Bei einer Laufzeit von ca. 30 min erreichte die Fließmittelfront eine Strecke von 11 cm.

In Tabelle 8 sind die Rf-Werte von sechs Metallchelatkomplexen wiedergegeben.

Tabelle 8: Auftrennung von sechs Metallchelatkomplexen mit Na-DDTC in Chloroform/Essigester (75 : 25)

Komplexbildner: Na-DDTC; pH 8

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte
As(DDTC) ₃	0,75
Sb(DDTC) ₃	0,78
Tl(DDTC)	0,82
Bi(DDTC) ₃	0,84
Hg(DDTC) ₂	0,86
Pb(DDTC) ₂	0,89

Die Steighöhen unterschieden sich zu wenig, um eine klare Aussage für ein bestimmtes Metallchelat machen zu können. Eine wesentliche Beeinflussung durch Essigester wurde also nicht festgestellt. Überdies hatten wir mit der Laufmittelkomponente Chloroform so wenig Erfolg, daß wir von nun an auf dieses Fließmittel als Komponente bei unseren weiteren Versuchen verzichteten.

2. Versuche mit Diäthylamin als Laufmittelkomponente

a) Anwendung des Fließmittelgemisches Diäthylamin/ Dichlormethan

Wir setzten unsere Versuchsreihe zur Ermittlung eines geeigneten Fließmittelsystems mit dem Austausch von Chloroform durch Diäthylamin " $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ " fort und erwarteten uns damit zufriedenstellendere Resultate. Als zweite Komponente wählten wir zunächst Dichlormethan CH_2Cl_2 , einem weniger polar wirkenden Fließmittel. Zusammensetzung $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2 : \text{CH}_2\text{Cl}_2 (1 : 22)$. Wir wählten wieder einige Metallchelate aus.

Nach einer Laufzeit von 40 min und einer Laufstrecke von 12 cm wiesen die geprüften Metallchelate die folgenden Rf-Werte auf, die in Tabelle 9 wiedergegeben sind.

Tabelle 9: Auftrennung einiger Metallchelate mit DÄ-DDTC in Diäthylamin/Dichlormethan (1 : 22)

Komplexbildner: DÄ-DDTC; pH 8

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte
$\text{Zn}(\text{DDTC})_2$	0,17
$\text{Ag}(\text{DDTC})$	0,51
$\text{Ni}(\text{DDTC})_2$	0,75
$\text{Pb}(\text{DDTC})_2$	0,76

Man konnte also zum ersten Mal von einer deutlichen Trennung der eingesetzten Metalle sprechen. Eine Unterscheidung zwischen Pb und Ni wurde durch die verschiedenen Diäthizonfarben erreicht. Natürlich stellte sich nun die Frage, ob dieses System auch für die anderen Metalle anwendbar sein würde. Es zeigte sich jedoch bei der Prüfung, daß bei den restlichen Metallen kein zufriedenstellendes Gesamtergebn erzielt werden konnte. Auch die bei unseren Versuchsreihen selten angewendeten Metallchelate wie Indium, Gallium, Molybdän und Wolfram ergaben Rf-Werte um etwa 0,83.

Überdies stellten wir fest, daß bei einem pH-Wert von 8 bei manchen Metallionen, speziell bei As und Cr die Extrahierbarkeit nicht quantitativ war. Um zu einem einheitlichen Schema zu gelangen, veränderten wir von nun an den pH-Bereich von 8 auf 5, der mit Hilfe von konz. Essigsäure und Natriumacetat eingestellt werden konnte.

b) Anwendung der Fließmittelgemische Diäthylamin/Dichlormethan, Diäthylamin/Chloroform und Diäthylamin/Dichloräthan

Bei der nächsten Versuchsanordnung sättigten wir drei verschiedene Kammern mit unterschiedlichen Laufmitteln.

1. Kammer: $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ im Verhältnis 172 : 12
2. Kammer: $\text{CHCl}_3 + \text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ im Verhältnis 172 : 12
3. Kammer: Dichloräthan + $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ im Verhältnis 172 : 12

Es wurde die gleiche Verfahrensweise wie bisher eingehalten, nur trat, wie schon erwähnt, anstelle von pH 8 der Puffer - pH Wert von 5.

Es stellte sich heraus, daß die Fließmittelfront bei der Komponente CH_2Cl_2 am schnellsten, bei Dichloräthan am langsamsten wanderte. Die Laufstrecke von 13 cm wurde von der Front bei CH_2Cl_2 nach 30 min, bei CHCl_3 nach 35 min und die bei Dichloräthan $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ nach 40 min erreicht. In Tabelle 10 sind die Rf-Werte der geprüften Metallchelate wiedergegeben.

Tabelle 10: Auftrennung einiger Metallchelate mit DÄ-DDTC in 1) $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (12 : 172)
2) $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2/\text{CHCl}_3$ (12 : 172)
3) $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2/\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ (12 : 172)

Komplexbildner: DÄ-DDTC; pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte in 1)	Rf-Werte in 2)	Rf-Werte in 3)
$\text{Sn}(\text{DDTC})_2$	0,10	0,10	0,11
$\text{As}(\text{DDTC})_3$	0,11	0,36	0,10
$\text{Zn}(\text{DDTC})_2$	0,28	0,22	0,22
$\text{Ag}(\text{DDTC})$	0,31	0,27	0,39
$\text{Bi}(\text{DDTC})_3$	0,75	0,41	0,75
$\text{Co}(\text{DDTC})_2$	0,76	0,38	0,59
$\text{Cr}(\text{DDTC})_3$	0,77	0,64	0,80

Metall- komplexe	Rf-Werte in 1)	Rf-Werte in 2)	Rf-Werte in 3)
Sb(DDTC) ₃	0,80	0,36	0,46
Ni(DDTC) ₂	0,82	0,84	0,77
Mn(DDTC) ₂	0,78	0,76	0,71
Mo(DDTC) ₂	0,0	0,08	0,08
Cd(DDTC) ₂	0,70	0,65	0,64
Pd(DDTC) ₂	0,77	0,73	0,72
Hg(DDTC) ₂	0,77	0,75	0,71
Cu(DDTC) ₂	0,79	0,74	0,67
Tl(DDTC)	0,81	0,75	0,73
Pb(DDTC) ₂	0,77	0,75	0,69

Es ist insofern eine Gesetzmäßigkeit der Rf-Werte festzustellen, als beim Vergleich der 3 Systeme Gemisch $\text{CH}_2\text{-Cl}_2$ mit $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ die höchsten Rf-Werte erbringt, CHCl_3 die Mittelstellung einnimmt, während Dichloräthan mit $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ die geringsten Rf-Werte ergibt.

Insgesamt gesehen, handelt es sich hier jedoch um unzureichende Resultate, die zur Ermittlung eines geeigneten Fließmittelsystems nicht ausreichen, für einzelne Trennprobleme aber durchaus eine Lösung sein können.

c) Anwendung des Fließmittelgemisches Diäthylamin/Dichlor-
äthan/Hexan

Durch den Einsatz von Hexan, einem weniger polar wirkenden Fließmittel, hofften wir auf die Entflechtung der fast identischen Rf-Werte. Dem Fließmittelgemisch $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ wurden deshalb 50 ml Hexan zugesetzt. Die Rf-Werte sind in Tabelle 11 wiedergegeben.

Tabelle 11: Auftrennung von sechs Metallkomplexen
mit DÄ-DDTC in Diäthylamin/Dichlormethan/
Hexan (12 : 172 : 50)

Komplexbildner: DÄ-DDTC; pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte
As(DDTC) ₃	0,0
Tl(DDTC)	0,23
Ag(DDTC)	0,38
Cd(DDTC) ₂	0,46
Bi(DDTC) ₃	0,48
Pb(DDTC) ₂	0,54

Wie erwartet, konnten mit Hilfe des Hexans die Rf-Werte erheblich gesenkt werden, jedoch war die Trennung der geprüften Metallkomplexe bei weitem noch nicht ausreichend. Zudem zeigte sich bei Thallium eine deutliche Schwanzbildung sowie bei Arsen keine Wanderungstendenz. Eine Wieder-

Metallkomplexe	Rf-Werte in 1)	Rf-Werte in 2)
Mo(DDTC) ₂	0,08	0,17
Sn(DDTC) ₂	0,08	0,13
Zn(DDTC) ₂	0,35	0,33
Hg(DDTC) ₂	0,65	0,73
Ni(DDTC) ₂	0,65	0,69
Cu(DDTC) ₂	0,65	0,74
Mn(DDTC) ₂	0,69	0,73
Cd(DDTC) ₂	0,69	0,73
Bi(DDTC) ₃	0,69	0,73
Pb(DDTC) ₂	0,73	0,73
Ag(DDTC)	0,77	0,73

Mit Ausnahme von Zink, Zinn und Molybdän, die sich deutlich abheben, lassen sich alle andere Metallchelate mit den eingesetzten Fließmittelgemischen nicht trennen.

e) Anwendung des Fließmittelgemisches Diäthylamin/Dichloräthylen

Bei der abschließenden Erprobung von Diäthylamin, diesmal in Verbindung mit Dichloräthylen hofften wir auf eine Verbesserung der Trennbarkeit der Metallchelate. Die Rf-Werte der geprüften Metallchelate sind in Tabelle 13 wiedergegeben.

Tabelle 13: Rf-Werte von vier Metallchelaten mit DÄ-DDTC in Diäthylamin/Dichloräthylen (6:86)

Komplexbildner: DÄ-DDTC; pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte
Sn(DDTC)_2	0,0
Ni(DDTC)_2	0,46
Co(DDTC)_2	0,50
Bi(DDTC)_3	0,53

Anhand der gewonnenen Resultate ist auch dieses Laufmittelgemisch für weitere Untersuchungen ungeeignet.

Zusammenfassend liegt der Schluß nahe, daß ebenso wie Chloroform als Hauptkomponente eines Laufmittelgemisches auch Diäthylamin nicht den gewünschten Anforderungen für eine ausreichende Auftrennung von Metallchelaten erfüllen kann. Aufgrund der Resultate sind eindeutige Parallelen bei den verschiedenen Laufmittelkomponenten im Gemisch mit Diäthylamin festzustellen, d.h. entweder fast identische Steighöhen der untersuchten Metallchelate oder nahezu übereinstimmendes Verhalten von beispielsweise Zn, Sn und Mo. Allerdings konnte bei manchen Fließmittelgemischen zumindest ein Metallchelatpaar eindeutig getrennt werden.

3. Versuche mit Petroläther als Laufmittelkomponente

a) Anwendung des Laufmittelgemisches Petroläther/Methanol

Nachdem die Anwendung von überwiegend polaren Lösungsmitteln keine befriedigenden Trennungen erbrachten, hofften wir durch Erhöhung der Konzentration von unpolaren Laufmitteln auf Fortschritte in der Ermittlung geeigneter Trennsysteme.

Wir entschieden uns für Petroläther (Petroleumbenzin, Siedebereich 60 - 80⁰ C.), das wir mit einem sehr polaren Mittel nämlich Methanol in den Verhältnissen 90 : 10 und 90 : 30 mischten. Trotz unterschiedlicher Konzentration ergaben sich mit einer Ausnahme identische Rf-Werte die in Tabelle 14 wiedergegeben sind.

Tabelle 14: Auftrennung von vier Metallchelaten mit DÄ-DDTC in Petroläther/Methanol

1) 90 : 10 und 2) 90 : 30

Komplexbildner: DÄ-DDTC; pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Wert in 1)	Rf-Wert in 2)
As(DDTC) ₃	0,05	0,05
Sb(DDTC) ₃	0,10	0,10
Mn(DDTC) ₂	0,15	0,20
Ag(DDTC)	0,20	0,20

Die Trennwirkung war also zu gering, bedingt durch die zu geringe Wanderungstendenz der beteiligten Metallchelate.

b) Anwendung des Laufmittelgemisches Petroläther/Aceton

Durch Reduzierung des unpolaren Anteils von Petroläther und durch Einbeziehung von Aceton, das weniger polar als Methanol ist, erwarteten wir bessere Ergebnisse.

Bei einer Laufstrecke von 13 cm und einer Laufzeit von 20 min, wurden folgende Rf-Werte erzielt, die in Tabelle 15 wiedergegeben sind.

Tabelle 15: Auftrennung der Metallchelate mit DÄ-DDTC in Petroläther/Aceton (75 : 25)

Komplexbildner: DÄ-DDTC; pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte
Sn(DDTC)_2	0,0
Cr(DDTC)_3	0,15 (und 0,30)
Mo(DDTC)_2	0,23
As(DDTC)_3	0,25
Bi(DDTC)_3	0,26
Pd(DDTC)_2	0,28
Cd(DDTC)_2	0,31
Cu(DDTC)_2	0,33

Metallkomplexe	Rf-Werte
Pb(DDTC) ₂	0,34
Sb(DDTC) ₃	0,35
Ni(DDTC) ₃	0,35
Co(DDTC) ₂	0,36 (und 0,18)
Hg(DDTC) ₂	0,38
Tl(DDTC)	0,41
Ag(DDTC)	0,42
Zn(DDTC) ₂	0,43
Mn(DDTC) ₂	0,49

Die Identifizierung der beiden Flecken, die beim Co und beim Cr sichtbar wurden, wird auf Seite 83 mit Hilfe der Spektralanalyse beschrieben.

In Abb. 1 sind einige Metallkomplexe mit DDTC graphisch wiedergegeben.

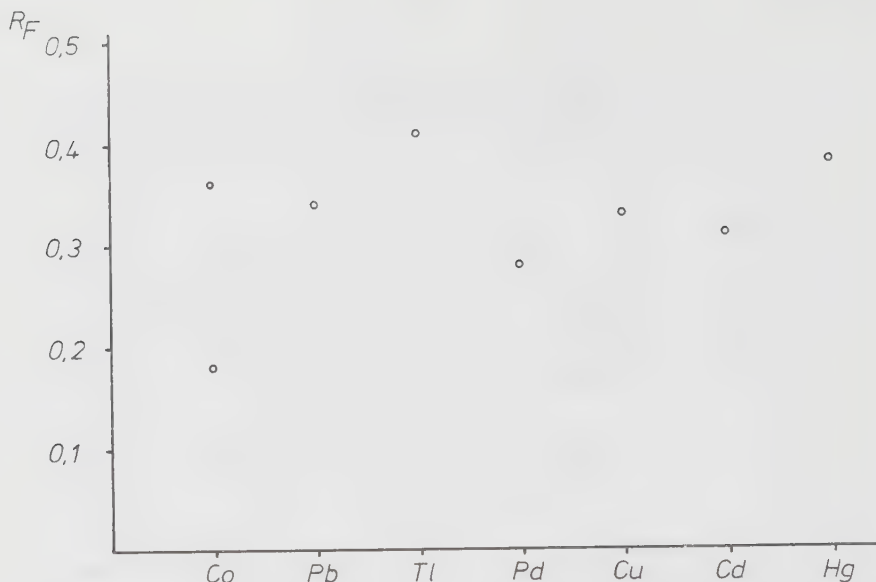


Abb. 1: R_F -Werte einiger Metallchelate in Petroläther/
Aceton (75 : 25)

Trotz guter Anfärbbarkeit mit Dithizon war eine Kennzeichnung dieser Metallchelate in dem Modellversuch aufgrund der geringen Unterschiede in den Steighöhen nicht optimal.

Auffallend an diesem Laufmittelgemisch ist jedoch die gute Trennung der As-, Sb-, Mn- und Ag-Chelate sowie der scharf umrissene Substanzflecken von Zn-Chelat, das bisher meist nur mit Schwanzbildung wandern konnte.

Obwohl die forensisch wichtigsten Metalle, nämlich As, Hg, Pb und Tl schon recht zufriedenstellend getrennt werden konnten, wie in Abb. 2 ersichtlich

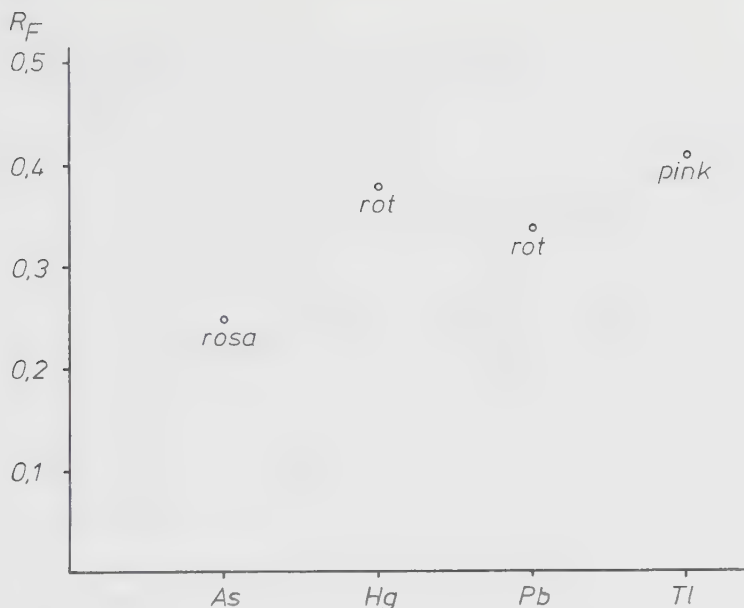


Abb. 2: R_F -Werte der forensisch wichtigsten Metalle in Petroläther/Aceton (75 : 25)

hofften wir durch Veränderung des Laufmittelgemisches noch auf eine Verbesserung der R_F -Werte.

c) Anwendung der Laufmittelgemische Petroläther/Aceton (75 : 75) und 90 : 10)

Nach einer Laufzeit von 25 min wurde von der Fließmittelfront eine Strecke von 13 cm erreicht. Die R_F -Werte der geprüften Metallchelatkomplexe sind in Tabelle 16 wiedergegeben.

Tabelle 16: Auftrennung einiger Metallchelate mit DA-DDTC in 1) Petroläther/Aceton (75 : 75)
in 2) Petroläther/Aceton (90 : 10)

Komplexbildner: DA-DDTC; pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Wert in 1)	Rf-Wert in 2)
Sn(DDTC) ₂	0,0	0,0
Co(DDTC) ₂	0,30 + 0,58	0,07
Mo(DDTC) ₂	0,50	0,04
Bi(DDTC) ₃	0,56	0,07
Ni(DDTC) ₂	0,61	0,15
Zn(DDTC) ₂	0,65	0,27

Bei der zweiten Versuchsanordnung zeigt sich deutlich der starke Einfluß der unpolaren Komponente Petroläther, deren Gehalt neunmal so hoch war wie der des polaren Anteils. Zudem ist bei gleichen Anteilen der Komponenten keine auffallende Trennung sichtbar, so daß wir diese beiden Gemischzusammensetzungen nicht weiter in Betracht zogen. Überraschend blieb das Sn-Chelat sowohl beim Verhältnis 75 : 75 als auch bei 90 : 10 am Startpunkt liegen.

d) Anwendung der Laufmittelgemische Petroläther/Aceton
(80 : 40) und (80 : 20)

Wir versuchten nun durch Variation des Mischungsverhältnisses der beiden Komponenten Petroläther und Aceton eine Verbesserung der Resultate zu erreichen. Der Anteil des apolaren Petroläthers wurde mit 80 ml belassen, wir stellten dafür einmal die polare Komponente Aceton im Verhältnis 2 : 1, zum anderen im Verhältnis 4 : 1 ein. Nach einer Laufzeit von 20 min und einer Laufstrecke von 10 cm erhielten wir folgende Rf-Werte, die in Tabelle 17 wiedergegeben sind.

Tabelle 17: Auftrennung einiger Metallchelate mit DÄ-DDTC in 1) Petroläther/Aceton (80 : 40)
in 2) Petroläther/Aceton (80 : 20)

Komplexbildner DÄ-DDTC; pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Wert in 1)	Rf-Wert in 2)
As(DDTC) ₃	0,35	0,10
Mn(DDTC) ₂	0,35	0,28
Bi(DDTC) ₃	0,37	0,08
Sb(DDTC) ₃	0,40	0,14
Co(DDTC) ₂	0,43	0,25
Ag(DDTC)	0,45	0,25

In Abbildung 3 sind die R_F -Werte einiger Metallkomplexe mit DÄ-DDTC wiedergegeben.

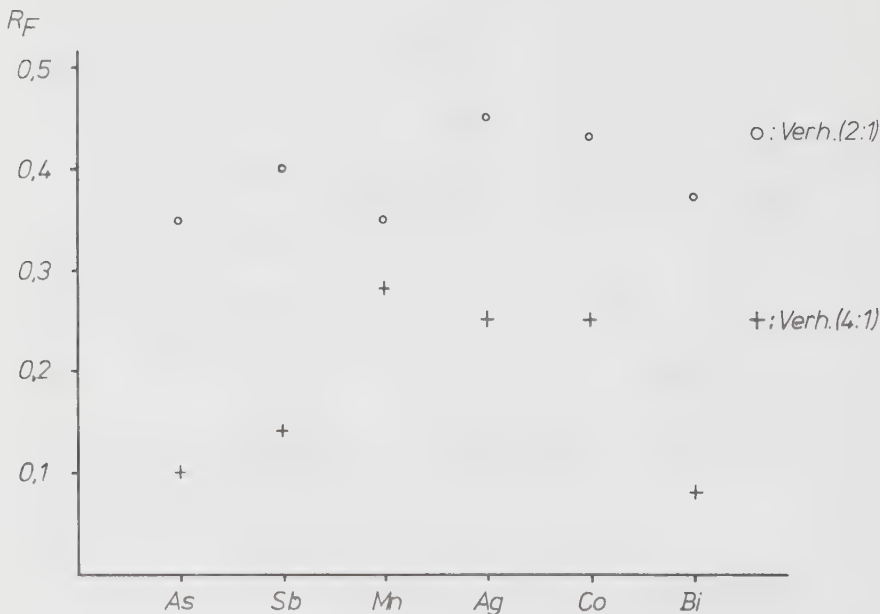


Abb. 3: Gegenüberstellung der R_F -Werte einiger Metallchelate mit DÄ-DDTC in Petroläther/Aceton (80 : 40) und Petroläther/Aceton (80 : 20)

Anhand der Abbildung ist deutlich der Einfluß der polaren Komponente Aceton zu erkennen. Beim Mischungsverhältnis (2 : 1) sind die R_F -Werte bedeutend größer als beim Verhältnis (4 : 1). Die Auswertung der Chromatogramme zeigte beim Verhältnis Petroläther/Aceton 2 : 1 zu geringe Trenneffekte, andererseits war beim Mischungsverhältnis 4 : 1

die Wanderungstendenz der Metallchelate zu gering. Auffallend ist lediglich der relativ hohe Rf-Wert von Mn mit 0,28 , sowie die geringe Steighöhe von Bi mit 0,08 .

c) Anwendung der Laufmittelgemische Petroläther/Aceton (65 : 35) und (55 : 45)

Durch Erhöhung des polaren Anteils Aceton und Reduzierung von Petroläther zu dem Verhältnis (65 : 35) erwarteten wir eine schnellere Wanderungsgeschwindigkeit und zugleich eine stärkere Auftrennung der Metalle. In einer zweiten Kammer lief ein Parallelversuch mit dem Fließmittelgemisch Petroläther/Aceton mit der Zusammensetzung 55 : 45.

Die Rf-Werte sämtlicher Metallchelate sind in Tabelle 18 wiedergegeben.

Tabelle 18: Auftrennung sämtlicher Metallchelate in
DÄ-DDTC in Petroläther/Aceton (65:35) 1)
in Petroläther/Aceton (55:45) 2)

Metallkomplexe	Rf-Werte in 1	Rf-Werte in 2
Cr(DDTC) ₃	0,29 + 0,50	0,40 + 0,55
Bi(DDTC) ₃	0,30	0,60
Sb(DDTC) ₃	0,33	0,65
Cd(DDTC) ₂	0,33	0,65
Cu(DDTC) ₂	0,38	0,65
As(DDTC) ₃	0,38	0,63
Pd(DDTC) ₂	0,38	0,50
Ni(DDTC) ₂	0,38	0,58

Metallkomplexe	Rf-Werte in 1	Rf-Werte in 2
Mn(DDTC) ₂	0,40	0,67
Pb(DDTC) ₂	0,40	0,68
Mo(DDTC) ₂	0,42	0,70
Tl(DDTC)	0,43	0,70
Hg(DDTC) ₂	0,46	0,72
Sn(DDTC) ₂	0,46	0,65
Ag(DDTC)	0,46	0,50
Zn(DDTC) ₂	0,46	0,60
Co(DDTC) ₂	0,48 u. 0,08	0,56 u. 0,15

Wie erwartet, stiegen insgesamt gesehen die Rf-Werte bei der Zusammensetzung Petroläther/Aceton 55 : 45 unter dem vermehrten Einfluß des polaren Acetons stärker als bei dem Verhältnis 65 : 35, jedoch sind die klaren Trennungen ausgeblieben. Gerade bei den vier wichtigsten Schwermetallgiften waren die Rf-Wert-Unterschiede recht gering, so daß die Laufmittelgemische nicht geeignet erschienen.

f) Anwendung des Laufmittelgemisches Petroläther/Pyridin

Nachdem wir zahlreiche Gemischzusammensetzungen mit Petroläther/Aceton ausprobiert hatten, lag nun aufgrund der unzureichenden Trennergebnisse der Versuch nahe, anstelle von Aceton das Fließmittel Pyridin einzusetzen. Pyridin steht in der eluotropen Reihe unmittelbar vor dem Aceton, hat also einen etwas unpolaren Charakter als Aceton. Als unpolareres Fließmittel beließen wir Petroläther, so daß wir mit dieser Zusammensetzung im Verhältnis 75 : 25 einer Lösung der Trennprobleme näherzukommen hofften.

In Tabelle 19 sind die Rf-Werte aller untersuchten Metallchelate sowie die Farben mit Dithizon wiedergegeben.

Bei einer Laufzeit von 30 min erreichte die Fließmittelfront 10 cm.

Tabelle 19: Auftrennung sämtlicher Metallchelate mit DÄ-DDTC in Petroläther/Pyridin 75 : 25 und Wiedergabe der Farben mit Dithizon, 1 mal gelaufen.

Komplexbildner: DÄ-DDTC, pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte	Farbe mit Dithizon
Ag(DDTC)	0,05	orange
Bi(DDTC) ₃	0,10	gelb
Cr(DDTC) ₃	0,11 + 0,32	dunkelblau u. gelb
Mo(DDTC) ₂	0,10	rot
As(DDTC) ₃	0,13	rosa
Zn(DDTC) ₂	0,14	pink
Sb(DDTC) ₃	0,16	rosa
Cd(DDTC) ₂	0,16	orange
Hg(DDTC) ₂	0,16	rot
Co(DDTC) ₂	0,17 + 0,05	gelb und braun
Pd(DDTC) ₂	0,20	violett
Pb(DDTC) ₂	0,20	rot
Cu(DDTC) ₂	0,22	dunkelbraun

Metallkomplexe	Rf-Werte	Farbe mit Dithizon
Ni(DDTC) ₂	0,23	braun
Tl(DDTC)	0,25	pink
Mn(DDTC) ₂	0,25	rosa
Sn(DDTC) ₂	0,28	orange

Bei der Erprobung zeigte es sich, daß die eingesetzten Metallchelate insgesamt betrachtet unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten aufwiesen und somit bessere Gesamtergebnisse zeigten. Eine gewisse Übereinstimmung brachten die Rf-Werte der Chelate der vier wichtigsten Metalle As, Pb, Tl und Hg mit den Steighöhen aus der Versuchsreihe Petroläther/Aceton 75 : 25. Da Pyridin in der eluotropen Reihe vor dem Aceton steht, fielen dementsprechend geringere Rf-Werte an, jedoch konnten einige der mit in Petroläther/Pyridin entwickelten Substanzen nach ihren Rf-Werten recht gut geordnet werden, wie die folgende Abbildung zeigt.

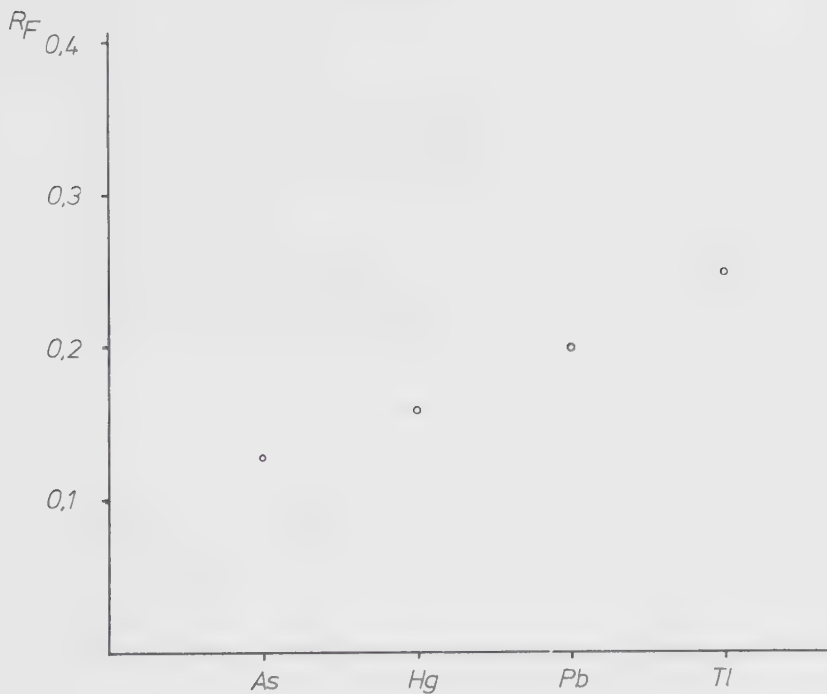


Abb. 4: DC-Auftrennung von As, Hg, Pb, Tl als DÄ-DBTC-Komplexe in Petroläther/Pyridin (75 : 25)

c) Anwendung der Laufmittelgemische Petroläther/Pyridin (80 : 20); (70 : 30) und (60 : 40)

Wie bei den vorausgegangenen Versuchsreihen auch, variierten wir noch das Mischungsverhältnis, um die Elutionswirkung des beteiligten polaren Fließmittels genauer zu überprüfen.

Bei einer Laufzeit von 25 min und einer Laufstrecke von 10 cm wurden die folgenden Rf-Werte einiger Metallchelate erhalten, die in Tabelle 20 wiedergegeben werden.

Tabelle 20: Auftrennung einiger Metallchelate mit DÄ-DDTC in Petroläther/Pyridin (80 : 20, 70 : 30 und 60 : 40), 1 mal gelaufen

Komplexbildner: DÄ-DDTC, pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte in 1	Rf-Werte in 2	Rf-Werte in 3
Bi(DDTC) ₃	0,06	0,22	0,35
Cd(DDTC) ₂	0,07	0,30	0,40
As(DDTC) ₃	0,08	0,25	0,40
Sb(DDTC) ₃	0,10	0,27	0,41
Cu(DDTC) ₂	0,15	0,40	0,50
Mn(DDTC) ₂	0,22	0,50	0,60

Wie aus der folgenden Abbildung 6 ersichtlich ist, vergrößert eine Erhöhung des Pyridin-Anteils des obengenannten Fließmittelsystems die Wanderungsgeschwindigkeit aller Substanzen nahezu gleichmäßig.

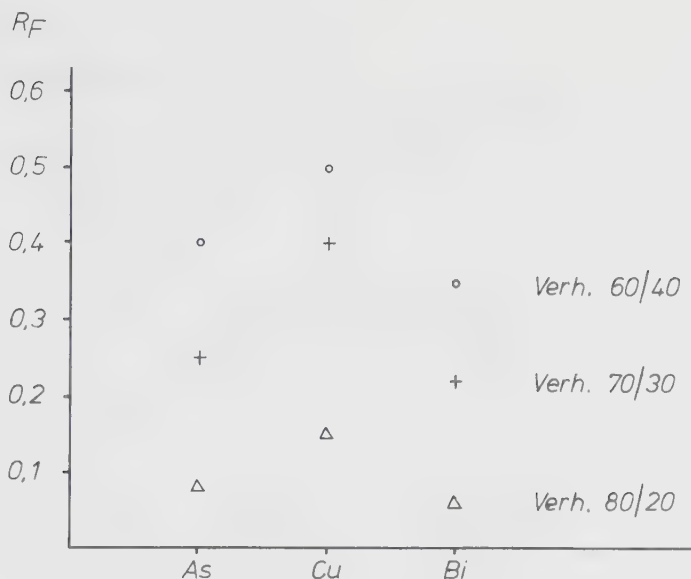


Abb. 5: Vergleich der R_F -Werte einiger Metallchelate bei verschiedenen Konzentrationsverhältnissen von Petroläther/Pyridin

4. Versuche mit Cyclohexan/Pyridin als Laufmittelgemisch

Eine Verbesserung der Ergebnisse erwarteten wir durch ein zweimal nacheinander erfolgreiches Entwickeln der Chromatogramme. Nach dem ersten Durchgang wurde die Dünnschichtplatte getrocknet und erneut in die Küvette gebracht. Die Methode des zweimaligen Entwickelns wendeten wir erstmals beim System Cyclohexan/Pyridin an, nachdem wir nach dem einmaligen Entwickeln zu geringe Steighöhen erhielten, wie man der nachfolgenden Tabelle 21 entnehmen kann.

Tabelle 21: Auftrennung von fünf Metallchelaten mit
DÄ-DDTC in Cyclohexan/Pyridin (75 : 25),
1 mal gelaufen

Komplexbildner: DÄ-DDTC, pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

<u>Metallkomplexe</u>	<u>Rf-Werte</u>
Ag(DDTC)	0,06
Cr(DDTC) ₃	0,12 + 0,21
Bi(DDTC) ₃	0,14
As(DDTC) ₃	0,16
Sb(DDTC) ₃	0,18

Wir wiederholten nun den Versuch, indem wir das Chromatogramm zweimal entwickeln ließen. Die Rf-Werte aller Metallchelate sind in Tabelle 22 wiedergegeben.

Tabelle 22: Auftrennung aller Metallchelate mit DÄ-DDTC in Cyclohexan/Pyridin (75 : 25),
nach 2-maligem Entwickeln

Komplexbildner: DÄ-DDTC, pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	Rf-Werte nach 2-maliger Entwicklung	Relative Rf-Werte bezogen auf Rf-Wert von Tl = 100
Mo(DDTC) ₂	0,18	34
Ag(DDTC)	0,20	38
Cr(DDTC) ₃	0,26	49
Cd(DDTC) ₂	0,27	51
Zn(DDTC) ₂	0,28	53
Bi(DDTC) ₃	0,30	57
Sn(DDTC) ₂	0,30	57
Co(DDTC) ₂	0,32	60
As(DDTC) ₃	0,35	66
Ni(DDTC) ₂	0,35	66
Cu(DDTC) ₂	0,36	68
Pb(DDTC) ₂	0,40	75
Sb(DDTC) ₃	0,40	75
Mn(DDTC) ₂	0,43	81
Hg(DDTC) ₂	0,45	84
Pd(DDTC) ₂	0,46	87
Tl(DDTC)	0,53	100

Das Trennverhalten konnte somit beim zweimaligen Entwickeln eindeutig verbessert werden. Zur Beurteilung der Brauchbarkeit dieser Methode wurde die Untersuchung auf folgenden Versuch ausgedehnt. Wir überprüften die Komplexe von Mn, Cu und Cd und trugen zusätzlich ein Gemisch dieser drei Chelate auf. Das Ergebnis war erfreulich. Es wurden nicht

nur diese drei Metallchelate deutlich getrennt, auch das Gemisch ließ sich nach zweimaligem Entwickeln einwandfrei identifizieren. Die R_f -Werte sind in Tabelle 23 und Abb. 6 wiedergegeben.

Tabelle 23: Auftrennung von drei Metallchelaten mit DÄ-DDTC in Cyclohexan/Pyridin (75 : 25) nach zweimaligem Entwickeln

Komplexbildner: DÄ-DDTC, pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallkomplexe	R_f -Werte
$\text{Cd}(\text{DDTC})_2$	0,27
$\text{Cu}(\text{DDTC})_2$	0,36
$\text{Mn}(\text{DDTC})_2$	0,43

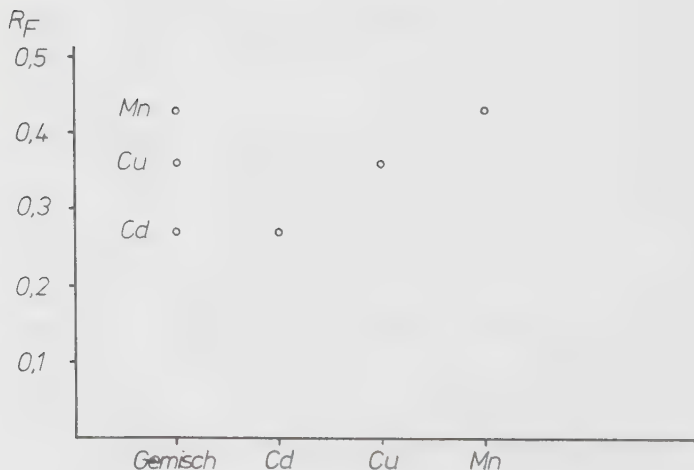


Abb. 6: Auftrennung eines Gemisches aus Cd, Cu und Mn in Cyclohexan/Pyridin (75 : 25)

Somit hatten wir zwei Systeme, nämlich Petroläther/Pyridin und Cyclohexan/Pyridin in der Hand, die uns die forensisch wichtigen Metalle gut über die Laufstrecke verteilen und daher brauchbare Analysenergebnisse darstellen. Ergänzt wird die Identifizierung der Metalle durch die unterschiedliche Anfärbbarkeit mit Dithizon.

5. Gegenüberstellung der Systeme Petroläther/Pyridin und Cyclohexan/Pyridin

Zusammenfassend ist aus der Gegenüberstellung der beiden Systeme Petroläther/Pyridin (75 : 25) und Cyclohexan/Pyridin (75 : 25) bei zweimaliger Entwicklung ersichtlich, daß die forensisch wichtigsten Schwermetallgifte ein gutes Trennverhalten, wie in Tabelle 24 und Abb. 7 wiedergegeben, zeigen.

Tabelle 24: Auftrennung aller Metallchelate mit DÄ-DDTC in Cyclohexan/Pyridin (75 : 25) und Petroläther/Pyridin (75 : 25) nach zweimaligem Entwickeln.-

Komplexbildner: DÄ-DDTC, pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metall- komplexe	Rf-Werte nach 2- maliger Entwickl.	Relative Rf-Werte bezogen auf Tl=100	Rf-Werte nach 2- maliger Entwickl.	Relative Rf-Werte bezogen auf Tl=100
	im System Cyclohexan/ Pyridin		im System Petroläther/ Pyridin	
Mo(DDTC) ₂	0,18	34	0,22	42
Ag(DDTC)	0,20	38	0,11	21
Cr(DDTC) ₃	0,26	49	0,10	19
Cd(DDTC) ₂	0,27	51	0,23	43
Zn(DDTC) ₂	0,28	53	0,30	58
Bi(DDTC) ₃	0,30	57	0,25	48
Sn(DDTC) ₂	0,30	57	0,30	57
Co(DDTC) ₂	0,32	60	0,34	65
As(DDTC) ₃	0,35	66	0,31	60
Ni(DDTC) ₂	0,35	66	0,37	71
Cu(DDTC) ₂	0,36	68	0,42	81
Pb(DDTC) ₂	0,40	75	0,38	73
Sb(DDTC) ₃	0,40	75	0,22	42
Mn(DDTC) ₂	0,43	81	0,35	67
Hg(DDTC) ₂	0,45	84	0,20	38
Pd(DDTC) ₂	0,46	87	0,35	67
Tl(DDTC)	0,53	100	0,52	100

Die graphische Wiedergabe der Rf-Werte aus beiden Systemen nach zweimaligem Entwickeln ist in Abb. 7 ersichtlich.

X_f - Wert

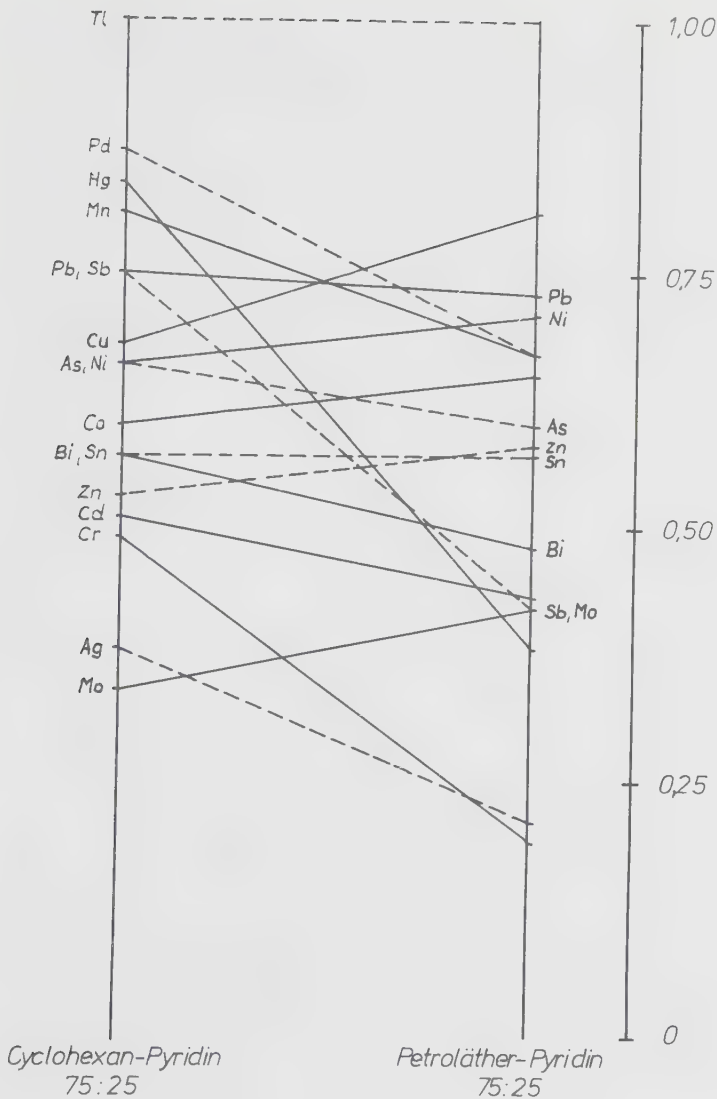


Abb. 7: Auftrennung aller Metallchelate mit DÄ-DDTC nach zweimaligem Entwickeln in den Systemen Cyclohexan/Pyridin und Petroläther/Pyridin (75 : 25)

In Abb. 8 sind die vier forensisch wichtigsten Metallchelat-
late nach ihren R_F -Werten geordnet, wiedergegeben.

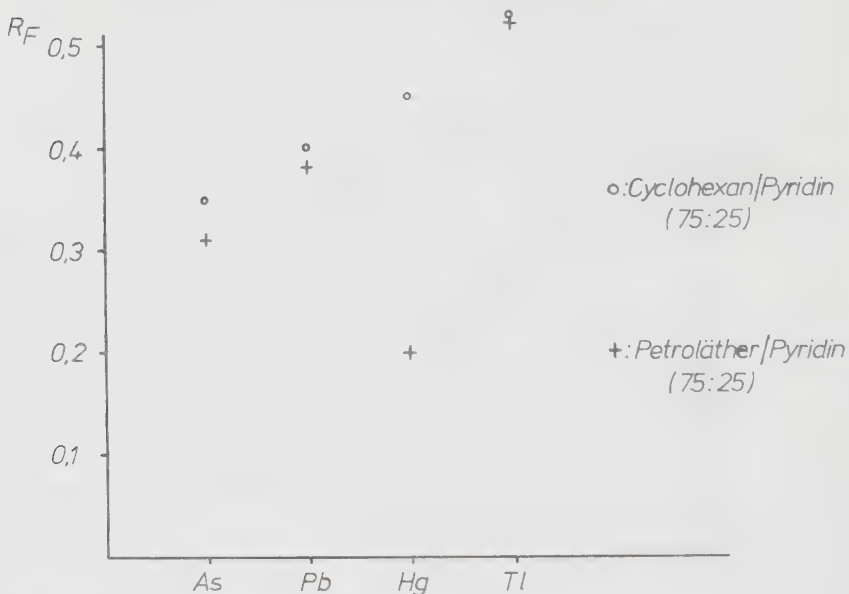


Abb. 8: Vergleich der Wanderungsgeschwindigkeiten der
Chelate von As, Pb, Hg und Tl in Cyclohexan/
Pyridin (75 : 25) und Petroläther/Pyridin
(75 : 25) nach zweimaligem Entwickeln

Die anderen Metallkomplexe konnten ebenfalls mit Hilfe
dieser beiden Systeme recht gut getrennt werden wie man
der Tabelle auf Seite 80 und der Abbildung auf Seite 81
entnehmen kann.

6. Identifizierung von jeweils zwei Flecken bei Co- und Cr-Chelaten auf dem entwickelten Chromatogramm

Bevor wir uns noch mit den Erfassungsgrenzen der wichtigsten Metalle und der Anwendung dieses Verfahrens mit biologischem Material beschäftigten, wollten wir noch die beiden Flecken bei Co- und Cr-Chelaten identifizieren, die bei der Auswertung der Chromatogramme sichtbar wurden. Dazu gingen wir folgendermaßen vor:

Wir schabten die insgesamt vier Flecken der Co- und Cr-Chelate von der Dünnschichtplatte ab und schlossen das Kieselgel mit Natriumcarbonat/Kaliumcarbonat auf (alkalischer Aufschluß), dann wurde der Schmelzkuchen mit $2nHCl$ angesäuert und mit $2nNaOH$ alkalisch gemacht. Schließlich wurde mit verdünnter Essigsäure angesäuert und mit dem bereits bekannten Puffer auf pH 5 eingestellt. Daraufhin wurde mit $DA-DDTC/CHCl_3$ im Schütteltrichter extrahiert. Die abgetrennte organische Phase wurde mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und mit Wasserdampf eingedampft. Es folgte die Aufnahme des Rückstandes mit 1 ml $DA-DDTC/CHCl_3$ -Lösung und die vollständige Absorption durch zugesetzte Spektralkohle. Auf dem Wasserbad wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mit einem Spatel in eine Kohleelektrode eingefüllt. Die anschließende spektrographische Untersuchung führten wir bei 10 A und 90 sec im Lichtbogen durch.

Auf diese Weise prüften wir die insgesamt vier Flecken und erzielten dabei folgendes Ergebnis:

Bei der Überprüfung des Cr aus dem Chromatogramm nach zweimaligem Entwickeln in Cyclohexan/Pyridin zeigten sich bei dem langsamer wachsenden Flecken mit dem Rf-Wert von 0,26 vier Chromlinien, bei dem Flecken mit dem Rf-Wert von 0,45 dagegen keine Cr-Linien. Im einzelnen wurde für den langsamer wandernden Flecken die folgenden Chromlinien festgestellt.

4289,72	Å
4274,80	Å
3605,33	Å
3593,49	Å

Umgekehrte Verhältnisse trafen wir bei der Analyse von Co aus dem Chromatogramm nach zweimaligem Entwickeln in Cyclohexan/Pyridin an, denn hier zeigten sich Co-Linien bei dem Flecken mit dem Rf-Wert von 0,32, dagegen bei dem langsamer wandernden Flecken mit dem Rf-Wert von 0,10 keine Co-Linien. Im einzelnen wurde für den schneller wandernden Flecken die folgenden Co-Linien festgestellt.

3472,02	Å
3453,51	Å
3405,12	Å
3502,28	Å

Möglicherweise stammen die beiden anderen Flecken, die sich mit Dithizon bei Chrom gelb und bei Cobald dunkel-

braun anfärben ließen, von Nebenprodukten des Komplexbildners DA-DDTC.

7. Bestimmung der Nachweisgrenzen der untersuchten Metalle

Im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen wollten wir noch klären, wo die einzelnen Erfassungsgrenzen der überprüften Schwermetalle lagen. Damit sollte die Frage beantwortet werden, ob mit unserer Methode mindestens pathologische Werte im biologischen Material nachgewiesen werden können.

Wir stellten uns je drei Lösungen der verschiedenen Metalle mit unterschiedlichem Gehalt her und überprüften ihre Rf-Werte sowie ihre Anfärbbarkeit mit Dithizon und konzentrierter Ammoniak-Sprühreagenz in dem Fließmittelmisch Petroläther/Pyridin (75 : 25). Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 wiedergegeben.

Tabelle 25: Erfassungsgrenzen sämtlicher Metallchelate, im System Petroläther/Pyridin (75 : 25) geprüft

Komplexbildner: DÄ-DDTC, pH 5

Detektionsmittel: Dithizon

Metallchelate	Erfassungsgrenzen
Cu(DDTC)_2	0,5 μg
Pb(DDTC)_2	1 μg
Co(DDTC)_2	1 μg
Ni(DDTC)_2	1 μg
Sb(DDTC)_3	1 μg
Bi(DDTC)_3	1 μg
Cr(DDTC)_3	5 μg
Hg(DDTC)_2	5 μg
Sn(DDTC)_2	5 μg
Tl(DDTC)	10 μg
Cd(DDTC)_2	10 μg
Ag(DDTC)	10 μg
Zn(DDTC)_2	10 μg
Mn(DDTC)_2	10 μg
Mo(DDTC)_2	10 μg
Pd(DDTC)_2	10 μg
As(DDTC)_3	20 μg

Danach ist Kupfer am empfindlichsten mit einer Nachweisgrenze von 0,5 μg zu erfassen, während Arsen erst mit mindestens 20 μg nachzuweisen ist.

8. Anwendung auf biologisches Material

Abschließend sollte noch die Frage geklärt werden, ob unsere Methode auch auf biologisches Material anwendbar sein würde, d.h. ob sie in der forensischen Toxikologie als Nachweismöglichkeit eingesetzt werden könnte. Dazu wurde folgender Weg beschritten:

Jeweils 50 µg der vier forensisch wichtigsten Metallionen von Hg, Tl, Pb und Hg wurden auf je 5 g Leber verteilt. Die vier Bechergläser versetzten wir mit je 10 ml konz. Schwefelsäure und je 20 ml konz. Salpetersäure. Anschließend wurde die angesetzte Lösung erhitzt. Nach Zerstörung der Salpetersäure, was daran zu erkennen ist, daß die vorher rotbraune Veraschungslösung nach etwa einer Stunde schwarz wird, wurde die Entwicklung weißer SO₂-Dämpfe abgewartet. Als Oxydationsmittel gaben wir danach 70 %ige Perchlorsäure zu und dampften fast bis zur Trockene ein. Nach dem Erkalten wurde der Rückstand mit verd. Essigsäure aufgenommen, mit der Pufferlösung auf den pH-Wert von 5 gebracht und nach dem üblichen Schema untersucht. Die dünnschichtchromatographische Auswertung bestätigte unsere Erwartung, daß unsere Methode ohne weiteres auch auf biologisches Material anzuwenden ist. Sämtliche Metalle wurden auf dem Chromatogramm einwandfrei mit ihren aus unseren Modellversuchen bekannten Rf-Werten sowie durch Anfärbbarkeit mit Dithizon identifiziert. Sogar

der physiologische Cu-Gehalt der Leber, dessen Normalwert bei 0,35 mg% liegt, wurde bei allen vier Analysen auf der DC-Platte nach Detektion mit Dithizon als dunkelbrauner Flecken nachgewiesen.

G) ARBEITSVORSCHRIFT

Nach dem Ergebnis unserer Untersuchungen können wir die folgende Arbeitsvorschrift angeben (Reagenzien und Lösungen siehe Seite 37 und 38).

1. Mineralisierung

Die zu untersuchende Probe, z.B. 5 g Leber, wird mit 10 ml konz. H_2SO_4 und 20 ml konz. HNO_3 versetzt und auf dem Sandbad zum Sieden gebracht. Nach Zerstörung der Salpetersäure, was daran zu erkennen ist, daß die vorher rotbraune Veraschungslösung schwarz wird, wartet man, bis weiße Schwefeldioxid-Dämpfe aufsteigen, gibt dann in die Lösung 70 %ige Perchlorsäure als Oxidationsmittel hinzu und dampft fast bis zur Trockene ein.

2. Extraktion

Der Rückstand wird mit verd. Essigsäure versetzt und mit dem Essigsäure-Natriumacetat-Puffer auf einen

pH-Wert von 5 gebracht, bei dem sich die Metalle mit Ausnahme von As^{V} , Sb^{V} , Pd^{IV} , Sn^{IV} und Cr^{III} mit einer 1%igen Lösung von DÄ-DDTC in Chloroform extrahieren lassen. Die Metalle werden mit jeweils 2 x 5 ml einer 1 %igen DÄ-DDTC-Lösung im Schütteltrichter ausgeschüttelt.

Zur Erfassung von As, Sb, Pd und Sn wird die Veraschungslösung zum Sieden erhitzt. Nach Zusatz von Natriumsulfit als Reduktionsmittel wird gut durchgeschüttelt, nach dem Abkühlen mit einer 5 n Schwefelsäure angesäuert und wie oben extrahiert.

Soll auch Chrom^{III} mit erfaßt werden, muß anschließend im alkalischen Milieu mit H_2O_2 oxydiert und dann bei pH 5 mit DÄ-DDTC/ CHCl_3 in der beschriebenen Weise, extrahiert werden.

3. Dünnschichtchromatographie

Anschließend werden auf eine mit fluoreszenzhaltigem Kieselgel beschichtete Platte jeweils 0,01 ml der Chloroformphase aufgetragen. Danach wird die Platte in die mit dem Laufmittelgemisch 1: Cyclohexan/Pyridin 75 : 25 und Laufmittelgemisch 2: Petroläther/Pyridin 75 : 25 gesättigten Küvetten gestellt. Nachdem die Fließmittelfront eine Strecke von ca. 10 cm zurückgelegt hat, wird die Platte herausgenommen, kurz getrocknet und erneut in die Kammer gestellt. Nach zweimaligem Entwickeln wird das Chromatogramm unter einer UV-Lampe betrachtet, wobei die Metallchelate durch Fluoreszenzlösung lokalisiert werden können. Anschließend erfolgt das Besprühen mit einer 0,01 %igen Dithizonlösung sowie mit einer konz. Ammoniakreagenz.

H) DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten dünn-schichtchromatographischen Untersuchungen erstreckten sich auf 17 Metalle.

Der Nachweis von Metallgiften spielt auch heute noch eine wichtige Rolle im forensisch-toxikologischen Labor. Vor allem sind Vergiftungen mit Blei, Arsen, Quecksilber und Thallium für die Gerichtsmedizin von besonderer Bedeutung.

Die dünn-schichtchromatographische Auftrennung einzelner Metallgifte ist in der Literatur häufig beschrieben worden. Dazu wurde in einem Teil der Arbeit eine umfassende Zusammenstellung angegeben, wobei vor allem verschiedenen Fließmittelgemischen und Chelatbildnern bei der Metallextraktion Beachtung geschenkt wurde.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, für 17 Schwermetalle geeignete dünn-schichtchromatographische Trennmethode zu finden, wobei der Schwerpunkt auf die forensisch wichtigsten Metalle As, Pb, Hg und Tl gelegt wurde. Weiterhin wollten wir prüfen, ob unsere entwickelte Methode auch auf biologisches Material anwendbar sein würde.

Bei der Suche nach geeigneten Extraktionsmitteln konnten wir uns auf DÄ-DDTC und Na-DDTC beschränken, die schon bei den spektrographischen Nachweisen nach GELDMACHER-v. MALLINCKRODT und POOTH (1969) sehr gute Dienste leisteten. Wir arbeiteten damit eine Methode aus, die die Extraktion sämtlicher zu untersuchender Metalle zuließ, so daß immer einheitliche Versuchsbedingungen bestanden.

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit lag in der Überprüfung von Fließmittelsystemen auf ihre Anwendbarkeit in der Dünnschichtchromatographie bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. Ausführliche Versuchsreihen führten wir mit Fließmittelgemischen durch, die als Komponente Chloroform enthielten. Die Angaben der Literatur, die gerade diesen Bestandteil als erfolgversprechend darstellten, konnten wir allerdings nicht bestätigen. Auch Gemische mit Komponenten, die in der eluotropen Reihe in unmittelbarer Nähe von CHCl_3 stehen, brachten nicht zufriedenstellende Ergebnisse.

Insgesamt wurden von uns etwa 30 Fließmittelsysteme auf Anwendbarkeit untersucht, wobei noch verschiedene Variierungen hinsichtlich der Gemischzusammensetzungen vorgenommen wurden. Erst die Verwendung von Petroläther und Cyclohexan, jeweils im Gemisch mit Pyridin, brachte die nötige Ausgewogenheit in der Polarität, sodaß die eingesetzten Metallchelate recht gut getrennt werden

konnten. Dabei zeigte sich für viele Metalle eine Umkehr in der Reihenfolge der Rf-Werte.

Zur Detektion der Metallchelate auf den Chromatogrammen wurde Dithizon dem Kupfersulfat vorgezogen, weil es aufgrund unterschiedlicher Anfärbbarkeit der Identifizierung bessere Dienste leistete. Mit Hilfe der Rf-Werte und der speziellen Anfärbbarkeit konnte eine klare Aussage gemacht werden. Gerade mit den Gemischen Cyclohexan/Pyridin und Petroläther/Pyridin gelang mit zweimaligem Entwickeln eine gute Nachweisbarkeit der vier forensisch wichtigsten Metalle Hg, As, Pb und Tl, auch andere Schwermetalle konnten mit unserem Verfahren zufriedenstellend identifiziert werden.

Sodann wurden die Erfassungsgrenzen der untersuchten Metalle mit unserer dünnschichtchromatographischen Methode festgestellt. Die Mengen im μg -Bereich ließen nur noch punktförmige Substanzflecken zu, die sich mit Dithizon gerade noch anfärben ließen. Die Nachweisgrenzen lagen z.B. bei Kupfer bei $0,5 \mu\text{g}$ und bei Arsen bei $20 \mu\text{g}$.

Als biologisches Material stand uns die Leber zur Verfügung, die mit je $50 \mu\text{g}$ As, Pb, Hg und Tl versetzt wurde. Nach Veraschung mit konz. Schwefelsäure, konz. Salpetersäure und konz. Perchlorsäure wurde nach unserer Methode verfahren, wobei die Metalle ohne Schwierigkeiten nachgewiesen werden konnten. Das Verfahren ist so emp-

findlich, daß stets der physiologische Kupferwert der Leber im Chromatogramm erfaßt wurde.

Die genauen Arbeitsbedingungen für eine dünnschichtchromatographische Untersuchung auf Schwermetalle in biologischem Material werden angegeben.

1) LITERATURVERZEICHNIS

1. BALLSCHMITER, K.H.:
Chromatographie von Metallchelaten.
Z. Anal. Chem. 254, 348 (1971)
2. BALLSCHMITER, K.H. und P. HEIZMANN:
Chelatbildner in der organischen Chemie.
Z. Anal. Chem. 259, 110 (1972)
3. BALLSCHMITER, K.H. und H. NIEDERSCHULTE:
Komplexometrische Untersuchungen.
Z. Anal. Chem. 261, 191 (1972)
4. BÄUMLER, J. und S. RIPPSTEIN:
Zur Mikroquecksilberbestimmung.
Chimia 17, 361 (1963)
5. BLANK, A.B., N.T. SIZONENKA und A.M. BULGAKOVA:
An extraction photometric method for determining
total heavy metals by means of sodium-diethyl-
dithiocarbamate.
Khimii 18, 1046 (1963)
6. BODE, H.:
Systematische Untersuchungen über die Anwend-
barkeit der Diäthylcarbaminat in der Analyse.
Z. analyt. Chem. 142, 414 (1954)
Z. analyt. Chem. 143, 182 (1954)
Z. analyt. Chem. 144, 165 (1954)

7. BODE, H. und F. NEUMANN:
Untersuchungen über disubstituierte Dithiocarbamate. VIII. Mitt. Extraktionen mit Lösungen von DÄ-DDTC in organischen Lösungsmitteln.
Z. analyt. Chem. 172, 1 (1960)
8. BRINKMAN, U.A.Th. und G. KINGMA:
Small scale thin layer chromatography of inorganic cations on cellulose layers.
Z. Anal. Chem. 249, 16 (1960)
9. BRINKMAN, U.A.Th., G. de VRIES und E. van DALEN:
Chromatographic techniques using liquid anion-exchangers.
J. Chromatogr. 22, 407 (1966)
10. COZZI, D., P.G. DESIDERI, L. LEPRI und G. CIANTELLI:
Alginic acid, a new thin layer material. Part I.
J. Chromatogr. 35, 396 (1968)
11. COZZI, D., P.G. DESIDERI, L. LEPRI und G. CIANTELLI:
Thin layer chromatography of metal ions on alginic acid. Part II.
J. Chromatogr. 35, 405 (1968)
12. GALIK, A. und A. VINCOUROVA:
The determination of cobalt, nickel and iron by thin-layer chromatography of their chelates with 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol.
Anal. Chem. Acta 46, 113 (1969)

13. GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M. und M. POOTH:
Gleichzeitige spektrographische Prüfung auf 25
Metalle und Metalloide in biologischem Material.
Arch. Toxikol. 25, 5 (1969)
14. HABERDA, A.:
Giftmord durch Thallium.
Beitr. gerichtl. Med. 7, 1 (1928)
15. IWANTSCHEFF, G.:
Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikro-
und Spurenanalyse.
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße (1958)
16. KÖNIG, K.H. und K. DEMEL:
Dünnschichtchromatographie anorganischer Ionen
an reinem Zirkonhypophosphat.
J. Chromatogr. 39, 101 (1969)
17. KRLEZA, F.:
Die Trennung von Nickel, Cobalt, Mangan und Zink
von den Kationen der dritten analytischen Gruppe
bei An- und Abwesenheit von Phosphat mittels der
Carbamid-Methode.
Croatica Chem. Acta 35, 275 (1963)
18. KÜNZI, P., J. BÄUMLER und J. IM OBERSTEG:
Dünnschichtchromatographie der forensisch
wichtigen Metalle.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 52, 605 (1962)
19. LEWIN, L.:
Die Gifte der Weltgeschichte.
Springer Verlag, Berlin (1920)

20. MALISSA, H., R. KELLNER und P. PROKOPOWSKI:
Analyse von Metalltetramethyldithiocarbami-
dat-Gemischen durch Kombination von Dünnschicht-
chromatographie und Infrarotspektroskopie.
Analyt. Chim. Acta 63, 225 (1973)
21. MIKETUKOVA, V. und K. KACL:
Extraction and estimation of metals by paper
chromatography in toxicology. Extraction and
estimation of arsenic and antimony.
Intern. Congr. Pure Appl. Chem. Prague (1967)
22. MIKETUKOVA, V. und R.W. FREI:
The thin-layer chromatographic properties of
trace metals.
I. Separation of some metals with special
reference to lead.
J. Chromatog. 47, 427 (1970)
23. PÜSCHEL, R., E. LASSNER und K. KATZENGRUBER:
Selektive spektralphotometrische Bestimmung von
Eisen, Kobalt und Nickel nebeneinander mit
1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol.
Z. Anal. Chem. 223, 414 (1966)
24. RAJEEV, R., C. GUPTA und S.P. SRIVASTAVA:
TLC Separations of U, V, Mo, Ti, Zr, Co, Ni, Cu
and Fe.
Z. anal. Chem. 262, 364 (1972)
25. RANDEROTH, K.:
Dünnschichtchromatographie.
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße (1962)

26. REINHARDT, G., M. GELDMACHER-v.MALLINCKRODT,
H. KITTEL und O. OPITZ:
Akute tödliche Vergiftung mit Silbernitrat als
Folge eines Abtreibungsversuches.
Arch. f. Kriminologie 148 69 (1971)
27. ROEMPPE, H.:
Chemie Lexikon.
Frankli'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart (1962)
28. SEILER, H.:
Dünnschichtchromatographie anorganischer Ionen.
Trennung verschiedener Oxydationsstufen von
Vanadium.
Helvetica Chimica Acta, Vol. 53, 1423 (1970)
29. SEILER, H.:
Theoretische Betrachtungen zur DC von Kationen.
Helvetica Chimica Acta 45, 381 (1962)
30. SENF, H.J.:
Die Anwendung der DC in der anorganischen
Analyse.
Z. Chem. 6, 102 (1966)
31. SENF, H.J.:
Die dünnschichtchromatographische Trennung der
Diäthylthiocarbamate der Elemente Hg, Pb, Cu,
Bi und Cd.
J. Chromatog. 21, 363 (1966)
32. SENF, H.J.:
DC in der anorganischen Analyse.
2. Mitt. DC-Trennung einiger 1-Nitroso-2-
naphthol-Metallchelate.
J. Chromatog. 27, 331 (1967)

33. SOLJIC, Z. und S. TURINA:
Separation of Al, Ti, In, Fe and Ga by thin-layer chromatography on cellulose.
Z. Anal. Chem. 257, 348 (1971)
34. SOLJIC, Z. und V. MARJANOVIC:
Separation of Cu, Pb, Ag, Mg, In, Cd, Sn and Zn by thin-layer chromatography on cellulose.
Z. Anal. Chem. 257, 347 (1971)
35. STAHL, E.:
Dünnschichtchromatographie.
Springer Verlag, Heidelberg (1962)
36. TEWARI, S.N. und N. BHATT:
Separation and identification of metaldithizonates by thin-layer chromatography and its application in toxicological analysis.
Microchim. Acta 337, Number 3 (1973)
37. TÖLG, G.:
Qualitativer Trennungsgang für Kationen durch Ausschütteln.
Z. Anal. Chem. 190, 161 (1962)
38. VECERA, A. und B. BIEBER:
Photometric determination of arsenic in technical iron by silver diethyldithiocarbamate.
Slevarenstvi 12, 366 (1956)
39. WOHLLEBEN, G.:
Handbuch der Lebensmittelchemie. Band II, Teil I.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 584 (1965)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut und für die Übernahme des Korreferates danken.

Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt danke ich für die Überlassung des Themas und für ihre vielfältigen und wertvollen Anregungen bei der Anfertigung dieser Arbeit recht herzlich.

Frau Bocklage danke ich für die tätige Bereitschaft und für ihre unermüdliche Mithilfe bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Herrn O. Opitz danke ich für die Unterstützung bei den spektrographischen Untersuchungen.

Lebenslauf

Name: Hermann
Helmut Gulden

geboren am: 31. Mai 1942

in: Nürnberg

Staatsangehörigkeit: deutsch

Name der Eltern: Heinrich Gulden, Oberlehrer i.R.
Anni Gulden, geb. Raum

Schulbildung: 1948-1963 Volksschule in Burgthann,
Oberrealschule mit Gym-
nasium Neumarkt//pf.

Militärzeit: 1963-1965

Studiengang: Studium der Chemie und Biologie an
der Universität Erlangen-Nürnberg
WS 1965 - SS 1971
Studium der Zahnmedizin an der Uni-
versität Erlangen-Nürnberg
WS 1971 - WS 1975

Prüfungen: Abitur 1963
Staatsexamen für das Höhere Lehramt 1971
Vorphysikum 1972
Physikum 1973
Zahnmedizinisches Staatsexamen 1976

Heirat: 22.9.1973 mit Christa Gulden geb.
Miederer

Erlangen, im Oktober 1976

Helmut Hermann G u l d e n

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197